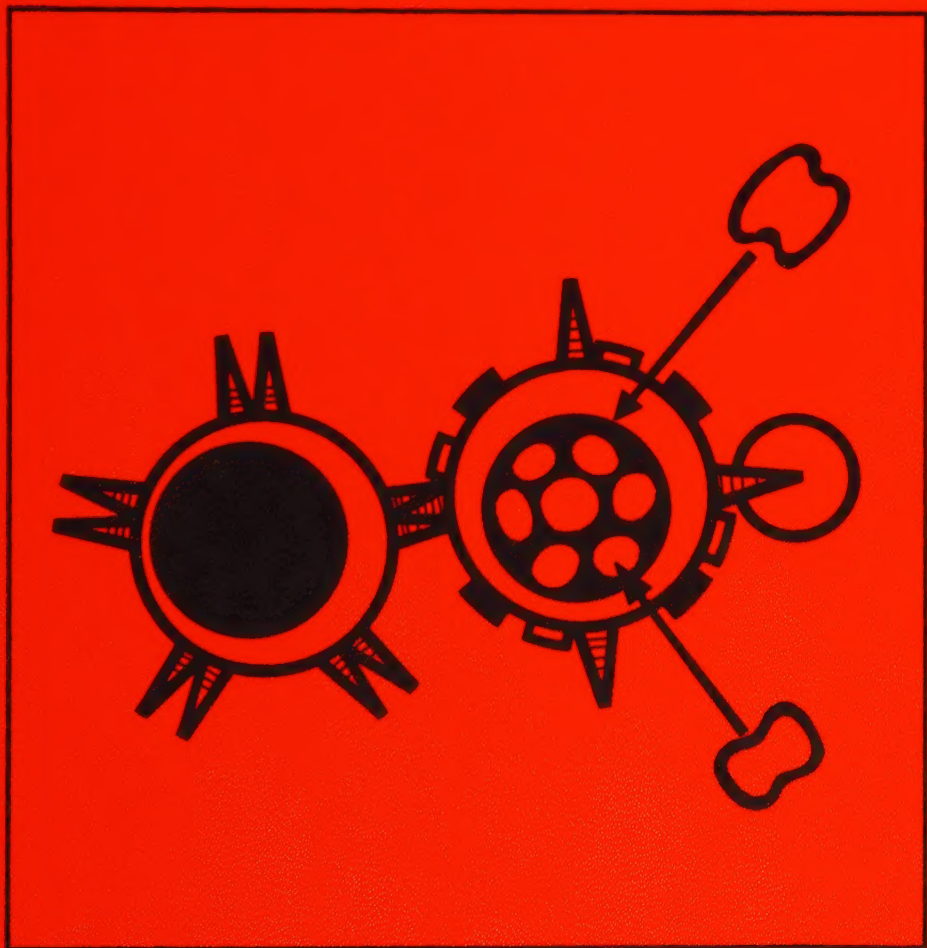


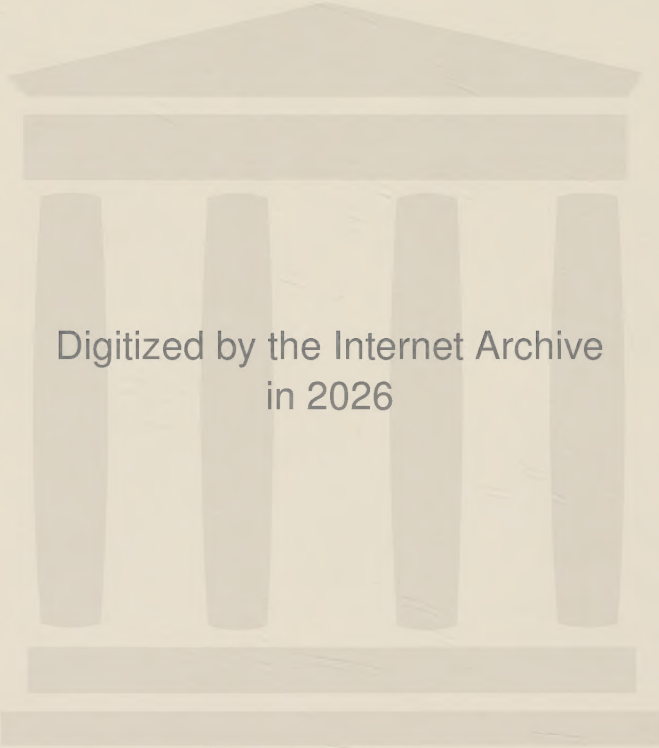
Erlangen 1968

Hilde Götz

Antigenität von Tumorproteinen



de Gruyter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1968 № 51

Antigenität von Tumorproteinen

Hilde Götz

Mit 19 Abbildungen
und 6 Tabellen



Walter de Gruyter · Berlin · New York 1972

Hilde Götz, Prof. Dr. med., Leiterin des Forschungslaboratoriums für Transplantations- und Tumorimmunologie an der Chirurg. Univ. Klinik und Poliklinik der FU Berlin, Klinikum Westend



ISBN 3 11 004052 2

©

Copyright 1972 by Walter de Gruyter & Co., vormalis G. J. Göschen'sche Verlagshandlung J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung — Georg Reimer — Karl J. Trübner — Veit & Comp., Berlin 30. Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der photomechanischen Wiedergabe, der Herstellung von Mikrofilmen und der Übersetzung vorbehalten. — Satz und Druck: Mercedes-Druck, Berlin — Printed in Germany

Vorwort

In vorliegender Niederschrift wird der Versuch gemacht, aus der Komplexität der Probleme der Immunonkologie Wesen und klinische Bedeutung der Antigenität von Tumorproteinen darzulegen. Dies geschieht unter Zugrundelegung eigener, sowohl experimenteller als auch klinischer Untersuchungsbefunde sowie der Forschungsergebnisse der einschlägigen Literatur. Dabei erhebt diese relativ kurz gefaßte Monographie nicht den Anspruch auf die Vermittlung eines umfassenden Wissensgutes aus der Fülle der Ergebnisse der Grundlagenforschung dieses modernen Zweiges der Immunologie, sie soll vielmehr unter einer größeren Gruppe von Kollegen und Studierenden das Interesse für das Gebiet der Immunonkologie und deren Bedeutung nicht nur für die Grundlagenforschung sondern auch für die praktische und klinische Medizin wecken.

In einer Einführung werden zunächst die Konzepte der relativ älteren Literatur über die immunologischen Auseinandersetzungen eines tumorbefallenen Organismus mit den Antigenen seiner malignen Geschwulst aufgeführt.

In einem zweiten Abschnitt über „Lösliche Proteine aus Tumorhomogenaten“ werden vorwiegend eigene, vergleichende Studien an menschlichen Normalgewebs- und Tumorhomogenaten beschrieben. Es handelt sich dabei im wesentlichen um agarelektrophoretische, biochemische sowie immunologische Untersuchungsbefunde, die auf ersten Versuchen aus den Jahren 1960 und 1962 aufgebaut wurden. Darüber hinaus finden sich experimentelle Ergebnisse an tumortragenden Ratten.

In einem letzten Abschnitt wird auf die neueren Erkenntnisse auf dem Gebiet der Immunonkologie, hier insbesondere auf das Wesen der „Tumorspezifischen Transplantationsantigene“ eingegangen. Nach Abhandlung und Erläuterung der wichtigsten Begriffe und Wirkungsweisen tumorspezifischer Immunphänomene folgt auch in diesem Kapitel die Darlegung eigener, experimenteller sowie klinischer Beiträge.

An den experimentellen Untersuchungen hat in den Jahren zwischen 1964 und 1968 eine Reihe von Doktoranden der Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg (Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses, Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth) und in den Jahren 1970/71 der

Freien Universität Berlin (Chirurgische Universitätsklinik im Klinikum Westend, Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl) mitgewirkt.

Mein Dank gilt vor allem meinem langjährigen Lehrer, Herrn Professor Scheiffarth, der mich dazu angeregt hat, Grundlagen, insbesondere methodische Grundlagen auf dem Gebiet der Immunologie zu erwerben, und der es verstanden hat, mich und alle seine Schüler für die Wechselwirkungen zwischen antigenen Faktoren und immunologisch kompetentem System eines entsprechenden Organismus zu interessieren. Mein Dank gilt aber nicht minder Herrn Prof. Dr. N. Henning, an dessen Klinik ich dahingehend geschult wurde, Erkenntnisse der Grundlagenforschung auf die klinische Praxis zu übertragen, eine Aufgabe, die sich als eine der schwierigsten im Verlaufe meiner Ausbildung und Hochschullaufbahn erwiesen hat. Herrn Prof. Dr. E. S. Bücherl, an dessen Klinik ich derzeit vorwiegend für Fragen der Transplantationsimmunologie und der Probleme Kunststoff-Blut tätig bin, danke ich sehr für sein großzügiges Entgegenkommen, die Arbeiten auf dem Gebiet der Immunonkologie intensiv fortführen zu können.

Berlin, im September 1972

Hilde Götz

Vorwort	v
1. Einführung	1
2. Lösliche Proteine aus Tumorphomogenaten	9
2.1. Quantitative und qualitative Zusammensetzung von Tumorproteinen	9
2.1.1. Elektrophoretische und biochemische Analysen	9
2.1.1.1. Allgemeine Versuchsanordnung	9
2.1.1.2. Untersuchungsgut	9
2.1.1.2.1. Menschliche Normal- und Tumorgewebe	9
2.1.1.2.2. Normales Muskelgewebe und transplantable Tumoren der Ratte	10
2.1.1.3. Methodik	10
2.1.1.3.1. Aufbereitung der Gewebe	10
2.1.1.3.2. Agarelektrophorese	11
2.1.1.3.3. Biochemische Nachweismethoden	12
2.1.1.4. Ergebnisse	13
2.1.1.4.1. Vergleichende Analysen menschlicher Normal- und Tumorgewebe	13
2.1.1.4.2. Vergleichende Analysen von normalem Muskel- gewebe (Skelettmuskulatur) und transplantablen Tumoren der Ratte	24
2.1.2. Immunologische Analysen	28
2.1.2.1. Allgemeine Versuchsanordnung	28
2.1.2.2. Untersuchungsgut	28
2.1.2.3. Methodik	28
2.1.2.3.1. Gewinnung spezifischer Antisera	28
2.1.2.3.2. Passive Hämagglutinationsreaktion	30
2.1.2.3.3. Zweidimensionale Immundiffusion im Agargel	30
2.1.2.3.4. Immunelektrophorese	31
2.1.2.3.5. Papierelektrophorese	32
2.1.2.3.6. Adsorption spezifischer Gewebs- bzw. Tumor- antikörper an speziesspezifische Proteinantigene zur Gewinnung organ- bzw. tumorspezifischer Immunsera	32
2.1.2.4. Ergebnisse	32
2.1.2.4.1. Befunde aus den Sensibilisierungsserien an Kaninchen	32

2.1.2.4.2.	Befunde an den menschlichen Normalgewebs- und Tumorphomogenat-Paaren	33
2.1.2.4.3.	Befunde an den Homogenaten der normalen Skelettmuskulatur der Ratte und entsprechender, ratten transplantabler maligner Tumoren	38
2.2.	Tierexperimentelle Untersuchungen zur Aufklärung antigener Tumoreigenschaften	39
2.2.1.	Übersicht über die verschiedenen Versuchsreihen	40
2.2.1.1.	Trägartiere	40
2.2.1.2.	Sensibilisierung mit dem Homogenat transplantabler Tumoren	40
2.2.1.3.	Passive Übertragung eines spezifischen Anti-Tumorserums vor Transplantation	40
2.2.1.4.	Passive Übertragung eines spezifischen Anti-DNS-Serums vor Transplantation	40
2.2.1.5.	Austauschtransplantation inoculierter Tumoren unter Paaren ein und derselben Zucht	41
2.2.1.6.	Austauschtransplantation inoculierter Tumoren unter Rattenpaaren verschiedener Herkunft	41
2.2.2.	Methodik	41
2.2.2.1.	Transplantationstechnik	41
2.2.2.2.	Sensibilisierung mit dem Homogenat transplantabler Tumoren	42
2.2.2.3.	Herstellung verschiedener Antiseren	42
2.2.2.3.1.	Anti-Tumorseren	42
2.2.2.3.2.	Anti-DNS-Serum	42
2.2.2.4.	Tumorexstirpation (Operationstechnik)	43
2.2.2.5.	Antikörper-Nachweismethoden	43
2.2.2.5.1.	Passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN	43
2.2.2.5.2.	Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY	43
2.2.2.5.3.	Immunfluoreszenz-Technik nach COONS	44
2.2.2.6.	Sonstige Serumanalysen	44
2.2.2.6.1.	Agarelektrophorese	44
2.2.2.6.2.	Papierelektrophorese	45
2.2.2.6.3.	Statistische Auswertung papierelektrophoretischer Befunde	45
2.2.2.6.4.	Immunelektrophorese	45
2.2.2.6.5.	Nachweis von Tumorantigenen im peripheren Blut	45
2.2.3.	Ergebnisse	45
2.2.3.1.	Ergebnisse der Vorversuche (Sensibilisierung von Kaninchen)	45
2.2.3.1.1.	Sensibilisierung mit Tumorphomogenat	45
2.2.3.1.2.	Sensibilisierung mit DNS-Lösung	46

2.2.3.2. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe I (Trägartiere)	46
2.2.3.2.1. Beobachtungen an den Transplantaten	46
2.2.3.2.2. Papierelektrophoretische Befunde der Serum- proteine	46
2.2.3.2.3. Agarelektrophoretische Befunde	48
2.2.3.2.4. Immunelektrophoretische Befunde	51
2.2.3.2.5. Passive Hämagglutination	51
2.2.3.2.6. Immunpräzipitation im Agargel	51
2.2.3.2.7. Antigen-(Tumorfaktor-)Nachweis	52
2.2.3.2.8. Fluoreszenzoptische Ergebnisse	52
2.2.3.3. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe II	52
2.2.3.3.1. Beobachtungen an den Versuchstieren	52
2.2.3.3.2. Verhalten der Serumeiweißkörper	52
2.2.3.3.3. Immunelektrophoretische Befunde	52
2.2.3.3.4. Passive Hämagglutinationsreaktion	53
2.2.3.3.5. Präzipitin-Nachweis	53
2.2.3.3.6. Immunfluoreszenzoptische Befunde	54
2.2.3.4. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe III	54
2.2.3.4.1. Beobachtungen an den Versuchstieren	54
2.2.3.4.2. Befunde der Serumproteine und Serumfermente	54
2.2.3.4.3. Immunelektrophoretische Befunde	54
2.2.3.4.4. Passive Hämagglutinationsreaktion	55
2.2.3.4.5. Präzipitationsreaktion im Agargel	55
2.2.3.4.6. Immunfluoreszenzoptische Befunde	56
2.2.3.5. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe IV	56
2.2.3.5.1. Beobachtungen an den Tieren	56
2.2.3.5.2. Serumprotein- und Serumferment-Befunde	56
2.2.3.5.3. Antikörper-Nachweisreaktionen	57
2.2.3.6. Ergebnisse der Kontrollgruppe zu III—IV	57
2.2.3.6.1. Beobachtungen an den Tieren	57
2.2.3.6.2. Serumprotein- und Serumferment-Befunde	57
2.2.3.6.3. Antikörper-Nachweisreaktionen	57
2.2.3.6.4. Fluoreszenzoptische Befunde	57
2.2.3.7. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe V	57
2.2.3.7.1. Beobachtungen an den Tieren	57
2.2.3.7.2. Serumproteinveränderungen	58
2.2.3.7.3. Antikörper-Nachweisreaktionen	58
2.2.3.8. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe VI	58
2.2.3.8.1. Beobachtungen an den Versuchstieren	58
2.2.3.8.2. Verhalten der Serumproteine	59
2.2.3.8.3. Antikörper-Nachweisreaktionen	59
2.3. Diskussion	60
2.4. Zusammenfassung	74
3. Tumorspezifische Transplantationsantigene: TSTA	76
3.1. Derzeitiger Wissensstand	76
3.1.1. Einführendes	76

3.1.2. Theorien zur Entstehung von Tumorantigenen	80
3.1.2.1. Entstehung primärer Tumorantigene	80
3.1.2.2. Entstehung sekundärer Tumorantigene	83
3.1.2.3. Entstehung von Pseudotumorantigenen	83
3.1.3. Spezielle Tumorantigene	84
3.1.3.1. Antigene experimentell erzeugter Tumoren	84
3.1.3.1.1. Antigene chemisch induzierter Tumoren	84
3.1.3.1.2. Antigene durch oncogene Viren induzierter Tumoren	85
3.1.3.2. Antigene menschlicher Tumoren	85
3.1.3.2.1. BURKITT-Lymphom und lymphomatöse Systemerkrankungen.....	86
3.1.3.2.2. Leukämien	87
3.1.3.2.3. Melanom	87
3.1.3.2.4. Intestinale Carcinome	88
3.1.3.2.5. Mamma-Carcinom.....	89
3.1.3.2.6. Chorionepitheliom	89
3.1.3.2.7. Bronchialcarcinom	90
3.1.3.2.8. GRAWITZ-Tumor (Hypernephrom)	90
3.1.3.2.9. Prostata-Carcinom.....	90
3.1.3.2.10. Harnblasencarcinom	91
3.1.4. Techniken zum Nachweis tumorspezifischer Antikörper und Antigene	91
3.1.4.1. Methoden zum Nachweis tumorspezifisch sensibilisierter Lymphozyten	91
3.1.4.2. Methoden zum Nachweis tumorspezifischer oder tumorassoziierter, molekularer Antikörper	92
3.1.4.3. Methoden zum Nachweis tumorspezifischer Antigene	94
3.1.5. Faktoren und Wirkungsmechanismen, welche die Antigenität von TSTA zu blockieren oder zu ändern vermögen.....	95
3.1.5.1. Immuntoleranz	95
3.1.5.2. Antigenmodulation	96
3.1.5.3. Immunselektion.....	96
3.1.5.4. Enhancement	96
3.1.5.5. Sponge-Phänomen	97
3.1.5.6. Immuninsuffizienz.....	97
3.1.5.6.1. Antikörpermangelsyndrom (AKMS).....	97
3.1.5.6.2. Thymektomie, Milzexstirpation	98
3.1.5.6.3. Immunsuppressive Therapie	89
3.1.5.6.4. Immuninsuffizienz mit zunehmendem Alter	89
3.2. Eigene Untersuchungsergebnisse	99
3.2.1. Experimentelle Untersuchungen über die Antigenität tiertransplan- tabler Tumoren	99
3.2.1.1. Untersuchungsgut und Versuchsanordnung	99
3.2.1.2. Methodik	101
3.2.1.3. Ergebnisse	102

3.2.2. Klinisch faßbare Immunphänomene	105
3.2.2.1. Patientengut, Untersuchungstechniken und Befunde einer Gruppe I	105
3.2.2.2. Patientengut, Untersuchungstechniken und Befunde einer Gruppe II	107
3.2.3. Schlußbetrachtungen zu den eigenen Befunden	108
Literatur I	111
Literatur II	119
Sachregister	123

1. Einführung

Die Beobachtungstatsache, daß sich Tumorgewebe histologisch wie auch histochemisch von seinem Ursprungsgewebe in mehr oder weniger charakteristischer Weise unterscheidet, hat bereits um die Jahrhundertwende das Forschungsgebiet der Immunologie, dessen Domäne bis dahin in der Aufklärung bakteriell verursachter Antigen-Antikörper- bzw. Toxin-Antitoxin-Reaktionen bestand, stark befruchtet. Die auf dem von nun an neuen Sektor der Immunologie erschienenen tierexperimentellen Arbeiten und später auch klinischen Untersuchungen nahmen prinzipiell ihren Ausgangspunkt von der Vorstellung, daß Tumorproteine zufolge ihrer Strukturänderung gegenüber Normalproteinen – durch Kern- oder Plasmamutation – die Fähigkeit besitzen, in einem Wirtsorganismus Antigenität zu entfalten und somit einen Sensibilisierungsvorgang mit der aktiven Produktion tumorspezifischer Antikörper zu induzieren.

Tumorimmunologie ist eng verknüpft mit Transplantationsforschung. Sie bedient sich der Möglichkeit, Gewebe, Zellfiltrate oder, wie hier, Spontan-tumoren im Tierversuch zu übertragen. Die dabei auftretenden Reaktionen verlaufen nach den Gesetzmäßigkeiten der Transplantationsreaktion. Es lag nahe, gegen solche Impftumoren zu sensibilisieren und die dabei ablaufenden immunologischen sowie serologisch faßbaren Vorgänge und Phänomene zu studieren. So gelang es Paul EHRLICH bereits 1906 [66a, b] am Modell des nach ihm benannten Ascites-Tumors der Maus durch Vorbehandlung mit Tumorextrakten oder mit vermehrungsunfähigen Tumorzellen, das Angehen mitotisch aktiver Zellen des gleichen Tumors zu verhindern oder zumindest erheblich hintanzuhalten. Auch nach operativer Entfernung erfolgreich transplanteder Impftumoren war eine Neu-Inokulation desselben Tumorzellenmaterials nicht mehr möglich. Gleiche Ergebnisse erzielten schon vor EHRLICH BASHFORD, 1903 [14a], BORELL, ebenfalls 1903 [32] sowie JENSEN [129a, b] und andere [14b, 157], später LEWIN [155a, b, c], ROUS und MURPHY [207], DOMAGK [61a, b, c, d, e] u. a. m. [15, 21a, b, 47, 63, 73a, b, c, 113a, b, c, d, e, f, 116, 144, 243, 250]. Durch erweiterte oder variierte Versuchsanordnung verschiedener anderer Autoren [74, 111a, b, c, 183] konnte jedoch auch gezeigt werden, daß nach Vorbehandlung mit spezifischem Tumorzellantigen die Transplantate des

gleichen Malignoms in höherem Maße angingen als bei unvorbehandelten Kontrolltieren. SUGIURA und BENEDICT [244a, b] sowie BERDEL und Mitarbeiter [17, 18] haben durch entsprechende Nachuntersuchungen und die dabei gewonnenen Ergebnisse diese scheinbar widerspruchsvollen Resultate zu erklären versucht: Es handelt sich nach deren Ansicht bei der Tumorummunologie um eine in Stufen oder Phasen ablaufende allergische Reaktivität des tumortragenden Organismus (Abb. 1). In den ersten Phasen

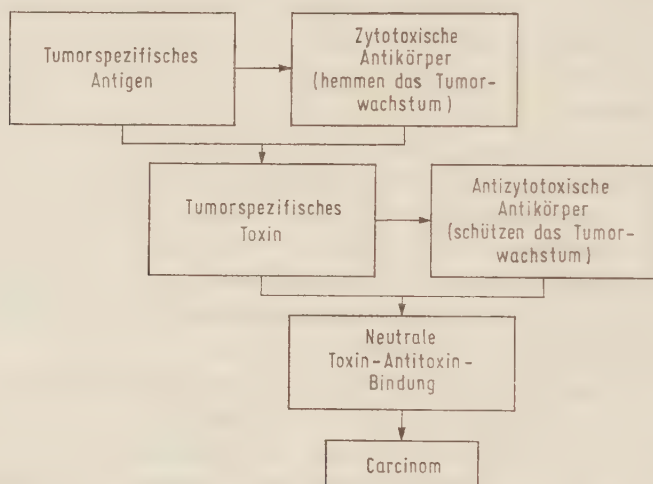


Abb. 1 Schema der allergischen Stufenreaktion nach BERDEL, BUDDECKE und WIEDEMANN [17]

vollzieht sich unter dem Einfluß eines tumorspezifischen Antigens eine Sensibilisierung des Wirtsorganismus sowie die Bildung tumorspezifischer Antikörper, die ihrerseits mit dem Antigen der Tumorzelle eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion bewirken und zur Zytolyse der Tumorzelle führen. Aufgrund des spezifisch zellständigen Ablaufes der Antigen-Antikörper-Reaktion und der damit einhergehenden zytolytischen Wirkung werden diese Reaktionen und die dabei auftretenden Antikörper als „zytotoxische“ Antikörper bezeichnet [225a, b]. Für die Existenz solcher – im übrigen auch zirkulierender – Antikörper sprechen die Untersuchungsergebnisse verschiedener Autoren, denen es gelang, durch passive Übertragung des Serums von mit Tumorantigen sensibilisierten Tieren auf andere, nicht vorbehandelte, das Tumorwachstum frisch transplantierte gleichartiger Malignome zu verhindern oder merklich zu hemmen [61, 62,

129, 154a, b, c, d, e, 155, 208a, b, c]. Die in der ersten Versuchsserie mitgeteilten Ergebnisse sind demnach Ausdruck einer in dieser Phase nachweislichen immunologischen Abwehrreaktion mit Bindung der inokulierten Tumorantigene durch spezifische zytotoxische Antikörper.

Nach der allergischen Stufenreaktion nach BERDEL (s. o.) erfolgt die in der ersten Phase ablaufende Antigen-Antikörper-Reaktion unter Freisetzung eines tumorspezifischen Toxins, gegen welches nunmehr in einer zweiten Stufe der immunologischen Reaktivität ein antizytotoxischer Antikörper gebildet wird, der seinerseits zu einer neutralen Toxin-Antitoxin-Bindung führt, wodurch das Wachstum einer entsprechenden Tumorzelle geschützt wird. Anders ausgedrückt, kommt es in einem über längere Zeit tumortragenden Organismus zu einer Art spezifischer „Desensibilisierung“ und damit zu einer „Abwehrlosigkeit“ gegen Tumorantigen, so daß in dieser Phase – und das entspricht den oben angeführten Versuchsergebnissen der zweiten Reihe – transplantable Tumorzellen, trotz Vorsensibilisierung mit dem gleichen Tumorantigen, ungehindert, ja sogar besser angehen und rascheres Wachstum zeigen als in Kontrolltieren. Für die Existenz antizytotoxischer Antikörper im Blut, die für diesen immunologischen Wirkungsmechanismus verantwortlich gemacht werden, können Versuchsergebnisse von RUBNER [208a, b] herangezogen werden, dem es gelang, durch passive Übertragung von Serum „tumordesensibilisierter“ Tiere auf nicht vorbehandelte, das ungehinderte Angehen von gleichartigen Tumorzellen bei den Empfängern unter Beweis zu stellen.

Für die zeitabhängige, unterschiedliche immunologische Reaktivität eines tumortragenden Organismus finden sich in der einschlägigen Literatur weitere Versuchsergebnisse, die diese Vorstellung erhärten [154a, b, c, d, e, 280a, b]. Bemerkenswerte Beobachtungen veröffentlichten hierzu u. a. SOUTHAM und RHOADS [240], die an gesunden Versuchspersonen nach subkutaner Implantation von Tumorzellen (aus Tumor-Zellkulturen) starke Abwehrreaktionen registrierten, die sich bei nochmaliger, späterer Applikation der gleichen Tumorzellen i. S. der hyperergischen Reaktion mit Abstoßung des Transplantats verstärkt äußerten. Die gleiche subkutane Impfbehandlung mit Tumorzellen an Kranken, d. h. tumortragenden Versuchspersonen, führte zu keinerlei pathologischen Reaktionen, dagegen zu einem Angehen und kontinuierlichen Wachstum der inokulierten Zellen bis zur Exstirpation des Tumors. Die Patienten reagierten jedoch auf die analoge Applikation von normalen menschlichen Zellen und Mikroorganismen, wie Bakterien und Viren, wie Gesunde, d. h. mit deutlichen Abwehrreaktionen.

Weitere, bis in die jüngste Zeit reichende, jedoch kaum übersehbare Literaturangaben weisen eine Reihe neuerer Arbeiten auf, in welchen über den tierexperimentell erzeugten oder auch klinisch beobachteten Nachweis tumorspezifischer Antikörper berichtet wird [3, 9, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 51, 69, 70, 77, 109, 145, 167, 169a, b, c, 171, 175a, b, 227, 233c, 276]. Andere Untersucher konnten jedoch, unter Berücksichtigung der gleichen Grundfrage und bei prinzipiell gleichartiger Versuchsanordnung, mit Bezug auf eine tumorspezifische Antikörperbildung keine eindeutigen Ergebnisse erzielen [38, 65, 71, 103a, b, 123a, b, 130a–f, 147, 190, 205, 238, 271].

Gewisse Schwierigkeiten ergeben sich häufig bei der Interpretation von Befunden, die zwar, unter Berücksichtigung der gewählten Versuchsanordnung, den Resultaten immunologischer Wechselwirkungen zwischen Tumortransplantat bzw. Tumorproteinen und dem aktiven Mesenchym des tumortragenden Organismus gleichkommen müßten, die wahrscheinlich aber unspezifischen Phänomenen entsprechen. Ferner ist zu berücksichtigen, daß zwar im Tierexperiment eine Reihe beachtenswerter Ergebnisse erzielt werden konnte, daß aber in der klinischen Humanpathologie diagnostisch oder prognostisch sicher verwertbare immunologische Indizien für die Existenz eines Tumors lange Zeit nicht objektiviert werden konnten [65, 103, 175a, 238, 271]; zumindest gelang es nicht, Gesetzmäßigkeiten zwischen einem einheitlichen, antigen wirksamen Gewebefaktor maligner Tumoren und einer spezifischen, immunologisch definierbaren Auseinandersetzung des Trägerorganismus mit diesem fraglichen Tumorantigen unter Beweis zu stellen (s. auch S. 76–91).

In vorliegender Arbeit sollte mit modernen immunologischen und serologischen Untersuchungsmethoden die Frage nach antigen wirksamen Komponenten eines wirtseigenen, malignen Gewebes erneut aufgegriffen und systematisch bearbeitet werden. Sorgfältig sollte dabei geprüft werden, ob und in welchem Umfange oder unter welchen besonderen Bedingungen in einem tumortragenden Organismus immunologische Reaktionen tatsächlich ablaufen, und inwieweit derartige Mechanismen zu der Hoffnung berechtigen, sie eines Tages therapeutisch ausnutzen zu können. Wichtigste Voraussetzung zur Beantwortung, wenigstens eines Teiles dieser Fragen, ist somit die *exakte Aufklärung des Antigencharakters von Tumorproteinen*.

Antigenität ist abhängig einerseits von der biochemischen Beschaffenheit einer proteinen Substanz bzw. eines Proteingemisches, andererseits von der Reaktionsfähigkeit des mit dem Antigen in Kontakt gebrachten Organismus.

Antigenität ist immunologisch definierbar durch die Art des Sensibilisierungsvorganges und die jeweils besondere Beschaffenheit der produzierten spezifischen Antikörper; demnach unterscheidet man:

Sensibilisierungsvorgänge, die durch *speziesfremde* Proteine, Xenoantigene, ausgelöst werden und zur Bildung spezifischer Xenoantikörper führen;

solche, die durch *speziesgleiche*, jedoch *individualfremde* Proteine, Alloantigene, ausgelöst werden und zur Bildung spezifischer Alloantikörper führen und schließlich

solche, die unter bestimmten Voraussetzungen durch proteine Faktoren des *gleichen Individuums* als Autoantigene eine Autosensibilisierung desselben Organismus mit Bildung spezifischer Autoantikörper verursachen.

Ob diese — bisher übliche — Definition der Autosensibilisierung in dieser Form haltbar sein wird, muß abgewartet werden, da unter Berücksichtigung neuerer Erkenntnisse auf dem Gebiete der Gewebs- und Transplantationsimmunität [36, 37, 39, 174a, b, 212b] Autoimmunisierungsprozesse unter anderem als Ausdruck einer primären Reaktivität des antikörperbildenden Systems bzw. des Verlustes der Immuntoleranz gegenüber körpereigenen Proteinen und nicht als Folge einer durch Autoantigene induzierten Stimulierung immunologisch kompetenter Zellen angesehen wird.

Der Begriff der Isosensibilisierung ist für immunologische Vorgänge unter *genetisch identischen* Individuen reserviert.

Überträgt man nun die einzelnen Möglichkeiten einer Antigencharakterisierung auf Tumorproteine, so sind zu deren Aufklärung also folgende Gesichtspunkte zu berücksichtigen:

Quantitative und qualitative Zusammensetzung von Tumorproteinen im Vergleich zu Normalproteinen;

Immunologisch definierbare Tumorantigenität:

Antigenität im xenologen Sensibilisierungsversuch,

Antigenität im Allosensibilisierungsversuch,

Antigenität im Autosensibilisierungsversuch bzw. bei Autoaggression.

Zunächst ist also zu beurteilen, ob die löslichen Proteine eines malignen Tumors sich prinzipiell von den Proteinen des Normalgewebes unterschei-

den, wodurch u. U. die Artfremdheit des malignen Gewebes unterstrichen würde und wodurch zugleich die Antigenität bewiesen wäre.

Aufgrund älterer [115, 241, 273, 278a, b, c, 279] und bisheriger [13, 55, 56, 67, 78, 117, 119, 125, 151, 195, 196a, b, 228, 229, 236a, b, 271, 278b] vergleichender Untersuchungen an Proteinen maligne entarteter und normaler Gewebe konnten übereinstimmende Resultate in quantitativer und qualitativer Hinsicht, etwa im Verteilungsmuster der elektrophoretisch getrennten, oder im Anteil makromolekularer, kohlenhydratreicher oder nucleinsäurehaltiger Komponenten nicht aufgezeigt werden. Die in der einschlägigen Literatur mitgeteilten Befunde über die Proteinmuster bzw. löslichen Eiweißkörper der jeweils verglichenen Gewebe sind recht unterschiedlich, ja sogar widerspruchsvoll. Das gilt vor allem auch für die Ergebnisse mit immunologischen Techniken [82b, 83, 121, 176, 210, 230, 239].

Weiterhin ist zu prüfen, ob tumorspezifische Proteine in ihrer Gesamtheit als Mischantigen immunologische Wirkungen, d. h. polyvalente Antigenität entfalten, oder ob nur *ein* Faktor mit spezifischer Antigenität anzunehmen ist, und ob dieser Faktor, unabhängig von Spezies- und Organspezifität, in prinzipiell allen bösartigen Geschwülsten vertreten ist.

Hierzu existieren mehrere Angaben in der einschlägigen Literatur, wonach die Wahrscheinlichkeit gegeben ist, daß ein malignomspezifischer Faktor aus einem Tumorgewebe die allein antigen wirksame Substanz darstellt. Die von verschiedenen Autoren isolierte, tumor-spezifische Substanz variiert von Untersucher zu Untersucher:

So berichten WITEBSKY und Mitarb. [265, 266, 268] sowie HIRSZFELD und Mitarb. [182a, b, 123a, b] bereits in früheren Jahren von der Existenz eines carcinom-spezifischen, *äthanollöslichen Antigens*, was, unabhängig von diesen Untersuchern, zu einem etwas späteren Zeitpunkt auch von HOYLE [127] bestätigt wurde.

RAPPORT und Mitarb. [198, 199a, b, 200] sowie GRAF und Mitarb. [102] haben ein phosphatidfreies *Lipid*, „SPHIGMO-Lipid“, aus malignem Gewebe extrahiert, welches als Hapten in Bindung mit anderen Lipiden bzw. Lipoproteiden oder mit Proteinen mit der Komplement-Bindungsreaktion in den Seren tumortragender Individuen nachweisbar wird. KOSAKI [148] beschrieb ein Phospholipid, „Malignolipin“, aus menschlichen Tumorextrakten, dem er als spezifisches Malignitätskriterium diagnostisch verwertbare Bedeutung beimißt. Über die Lipidnatur eines tumor-spezifischen Antigens wird darüber hinaus von BJÖRKLUND [29, 30] und anderen Untersuchern berichtet.

Andere Autoren [64, 170, 248] betrachten aufgrund ihrer Untersuchungen *cytoplasmatische* Faktoren der maligne entarteten Zelle, z. B. die Mitochondrienfraktion, als das spezifische Tumorantigen, während ZILBER und Mitarb. [278 a, b, c] seine bekannt gewordenen Modellversuche zum Beweis einer von Spezies und Gewebeart unabhängigen, allein tumorspezifischen Antigenität mit der *Nukleoproteinfraktion von Geschwulstzellen* anstellte.

In jüngster Zeit haben MAKARI [169 a, b, c] und, in Bestätigung seiner Befunde, eine Reihe anderer Autoren [24 a, b, 40, 41, 70, 136, 278] über umfangreiche, beachtenswerte klinische Untersuchungsergebnisse mit einem von ihm aus malignen Geweben isolierten *Polysaccharid* berichtet. Dieses befindet sich in der durch hochtourige Zentrifugierung (3000 bis 10 000 Upm) im Sediment enthaltenen Mitochondrienfraktionen M-1 und M-2, welche als carcinom-spezifische Antigene betrachtet werden. Als Nachweismethode wurde der SCHULTZ-DALE-Versuch für geeignet erachtet. Andere Autoren halten ein Protein vom Typ des *Serumalbumins* als tumorspezifisches Antigen (FUCHS und FALKENHAUSEN), DOMAGK und HACKMANN [62 a, b] beschrieben einen CO_2 -fällbaren *Eiweißkörper* als das antigen wirksame Prinzip in Malignomen; BITTNER [25 a, b] berichtete über einen – später nach ihm benannten – *Milchfaktor*. GUERRITORE und Mitarb. [110] beschrieben schließlich eine Proteinkomponente vom Typ eines β/γ -Globulins, welches sich vom normalen Gewebe abhebt und dem tumorspezifischen Antigen entsprechen kann.

Außerdem erhebt sich die Frage nach qualitativen, organspezifischen Faktoren, die – ähnlich wie etwa die Blutgruppenfaktoren – für bestimmte Gewebs- und damit auch Malignomarten charakteristisch sind, und deren spezifische Antikörper als Indikatoren Rückschlüsse auf die Existenz ganz bestimmter Malignome, also Carcinome, Sarkome, Lymphome u. a. m. zuließen.

Aufgrund älterer [35, 117, 122, 152, 267] und auch modernerer [5, 34, 102, 232, 271] Untersuchungsergebnisse besitzen Organproteine von Normalgeweben immunologisch definier- und nachweisbare Eigenschaften, und zwar

- spezies-spezifische (DOERR [59 a, b, c]),
- organ-spezifische (UHLENHUT [249], WITEBSKY [270]),
- blutgruppen-spezifische (WITEBSKY [271]) Eigenschaften.

Im Tumorgewebe ist nach den Untersuchungsbefunden von WEILER [261 a, b, c] die Organspezifität verlustig gegangen, weshalb es nicht gelin-

gen wird, mit immunologischer Nachweisttechnik die gewebliche Herkunft bösartiger Geschwülste bestimmen zu können. Dagegen bestehen andere, tierexperimentell beweisbare, immunologische Phänomene, die auf eine Malignomspezifität eines Tumorgewebes schließen lassen (HACKMANN, DITTMAR, KOECKE, LETTRE). Nach WITEBSKY [271] findet sich außerdem in malignen Tumoren eine Anreicherung von Blutgruppeneigenschaften. Schließlich ist zu prüfen, ob es sich bei einer eventuellen Sensibilisierung durch Tumorantigen mit Bezug auf den tumortragenden Organismus in einzelnen Fällen um eine Allo- oder im wesentlichen stets um eine Auto-Sensibilisierung handelt.

Hierzu sind im einschlägigen Schrifttum (Übersichten: WITEBSKY, SOUTHAM, SNELL, MILGROM u. a. m. [12b, 105, 115]) zahlreiche Versuchsergebnisse und Beobachtungstatsachen angeführt, die sich jedoch nicht ohne weiteres vereinheitlichen lassen.

Insgesamt beweisen die Darlegungen den derzeit noch nicht völlig geklärten Wissensstand über die mögliche Antigennatur eines malignen Tumors.

Der nachfolgende Abschnitt 2 ist so aufgebaut, daß zunächst in zwei größeren Unterabteilungen die Ergebnisse eigener biochemischer und immunologischer Organanalysen sowie die Resultate tierexperimenteller Untersuchungen mitgeteilt werden und daß in einem weiteren Abschnitt die einzelnen erhobenen Befunde unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur diskutiert werden.

2. Lösliche Proteine aus Tumorhomogenaten

2.1 Quantitative und qualitative Zusammensetzung von Tumorproteinen (Elektrophoretische, biochemische und immunologische Analysen)

2.1.1 Elektrophoretische und biochemische Analysen

2.1.1.1 *Allgemeine Versuchsanordnung*

Die nachfolgenden Untersuchungen an den Homogenaten menschlicher Tumor- und vergleichbarer Normalgewebe sowie die entsprechenden Analysen rattentransplantabler Tumoren bestehen in der elektrophoretischen Trennung der löslichen Proteine dieser Homogenate sowie in der biochemischen Charakterisierung der darstellbaren Proteinsysteme durch Färbe- und Fermentnachweismethoden. In einer weiteren Untersuchungsreihe werden die einzelnen Gewebseproteine mit immunologischen Techniken differenziert.

2.1.1.2 *Untersuchungsgut*

Untersucht wurden folgende Gewebshomogenate:

2.1.1.2.1 Menschliche Normal- und Tumorgewebe

Es handelt sich hier um die Homogenate sowohl von Operationspräparaten (Op) als auch von Leichenorganen (L)¹.

¹ Die Operationspräparate wurden über die Chirurgische Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Professor Dr. G. Hegemann), die Organe von der Leiche über das Pathologische Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Professor Dr. E. Müller) vermittelt, wofür an dieser Stelle bestens gedankt wird.

6	Magen-Carcinom	Op	normale Magenschleimhaut	6
2	Magen-Scirrhus	Op	normale Magenwand	5
3	Rectum-Carcinom	Op	normale Colonschleimhaut	5
1	primäres Leber-Carcinom	L	normales Leberparenchym	5
4	Mamma-Carcinom	Op	normales Mammaparenchym	5
4	Ovarial-Carcinom	Op	normales Ovarialgewebe	6
3	Hypernephrom	OpL	normales Nierengewebe	6
1	Prostata-Carcinom	L	normales Prostatagewebe	3
1	Pankreas-Carcinom	L	normales Pankreasgewebe	5
1	Hodgkin-Sarkom	L	normales Lymphknotengewebe	10

Tab. 1. Die jeweils am äußeren Rand aufgeführten Zahlen besagen die Einzelpräparate. Von ihnen wurde für jedes Organpaar je ein Pool hergestellt, der den einzelnen Analysen unterworfen wurde.

2.1.1.2.2 Normales Muskelgewebe und transplantable Tumoren der Ratte

Es handelt sich um die Homogenate von 30 Transplantaten eines Yoshida-Sarkoms² und 30 Transplantaten eines Walker-Carcinoms³ im Vergleich zu 25 Einzelpräparaten normaler Skelettmuskulatur der Ratte.

Die Homogenate wurden ebenfalls gepoolt und der Untersuchungsreihe unterworfen.

Die histologische Diagnose der Tumoren wie auch die Diagnose der für normal befundenen Gewebe war bei jedem der hier untersuchten Präparate vorher gesichert worden. Die feingewebliche Beurteilung wurde in dankenswerter Weise von Herrn Professor Dr. K. ELSTER (Pathologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg, Direktor: Professor Dr. E. MÜLLER) vorgenommen.

2.1.1.3 Methodik

2.1.1.3.1 Aufbereitung der Gewebe

Die Operationspräparate kamen unverzüglich, die Leichenorgane 18 Stunden post mortem zur Verarbeitung. Tumor- und Normalgewebe wurden in prinzipiell gleicher Weise behandelt. Bei der Extraktaufbereitung wurde im wesentlichen nach früheren eigenen Erfahrungen [89, 91, 92, 93, 219] vorgegangen:

² Tumortragende Ratten wurden dankenswerterweise von Herrn Priv.-Doz. Dr. GERICHKE, Farbwerke HOECHST, Frankfurt/Main sowie ³ von Herrn Prof. Dr. GRUNDMANN, Farbenfabriken BAYER AG, Wuppertal-Elberfeld, zur Verfügung gestellt.

Die Präparate wurden von Fett- und Bindegewebe befreit, grob zerkleinert (in Würfel geschnitten) und zur Entblutung in einem durch Gaze abgedeckten Becherglas unter fließendem Wasser vier Stunden lang gespült. Die Gewebebröckel wurden sodann mit etwa 3 T. Aqua dest. auf 1 T. Gewebemasse versetzt und mit dem Ultraturrax-Stab⁴ bei 20 000 Upm homogenisiert. Anschließend erfolgte scharfes Zentrifugieren bei 15 000 Upm 30 Min. lang in einer Kühlzentrifuge⁵ bei $+4^{\circ}$, wonach der Überstand sorgfältig abpipetiert und weiterbehandelt, das Sediment verworfen wurde. In den Fällen, in welchen mehrere gleichartige Malignome oder auch Normalgewebe zur Verfügung standen, wurden nunmehr die einzelnen Homogenate (Überstände) gepoolt und gegen 20proz. Collidon in Dialysiermembranen bei $+4^{\circ}$ auf einen Eiweißgehalt von 2–3 g/100 ml eingengt. Die Homogenate der Einzelpräparate wurden in gleicher Weise behandelt.

2.1.1.3.2 Agarelektrophorese

Es handelt sich hier um die einfache Elektrophorese in einem gepufferten Agargel. Diese Elektrophoresetechnik wurde deshalb gewählt, weil sie im Vergleich zur Elektrophorese in anderen Medien, etwa Papier, Stärke, Cellogel, und auch Polyacrylamidgel, erstens eine vielfältige Kombination mit biochemischen Nachweisreaktionen zur näheren Charakterisierung der getrennten Proteine gestattet, und weil sie zweitens ohne weiteres einen exakten Vergleich zu den später beschriebenen Immunelektrophorese-Befunden ermöglicht.

Die methodischen Angaben zur Durchführung der Agarelektrophorese finden sich im einzelnen, abgesehen von der Originalliteratur [96a–d, 97, 98, 264] in früheren eigenen Arbeiten ausführlich beschrieben [90, 118, 214a]. Es sei lediglich erwähnt, daß aus Gründen der besseren Übersicht und Vergleichbarkeit der Befunde und außerdem aus der Notwendigkeit heraus, für die nachfolgenden Fermentnachweisreaktionen optimale Eiweißmengen zur Verfügung zu haben, Agarplatten mit den Dimensionen 9×13 cm sowie 12×18 cm verwendet wurden. Diese Größenordnung liegt zwischen den Originalangaben (siehe bei GRABAR) und der Mikroelektrophorese-Methode von SCHEIDEGGER [211a, b]. Sie hat sich für die hier vorgenommenen Untersuchungen als optimal erwiesen.

Mit jedem Analysensatz wurde jeweils ein 2v(Serum) : 3v(Aqua dest.) : 5v(Agar) verdünntes Serum eines Gesunden bzw. einer unbehandelten

⁴ Fa. JANKE u. KUNKEL KG, Staufen i. Br.

⁵ Fa. CHRIST, Osterode/Harz.

Ratte vergleichsweise mitangesetzt. Die Homogenate wurden im Verhältnis 1: 2 mit Elektrophorese-Agar gemischt.

Für die Aufbereitung des Elektrophorese-Agars wie auch für die Elektrophoresekammern wurde ein MICHAELIS-Puffer $\text{pH} = 8,6$ Ionenstärke $\mu = 0,05$ verwendet. Die Elektrophorese erfolgte bei einer Spannung von 200 V (an den Platten 120 V) und einer Stromstärke von ca. 23 MAmp. Die Trennzeit betrug bei den hier gegebenen Versuchsbedingungen mit jeweils 18 Einzelanalysen 4 Stunden.

2.1.1.3.3 Biochemische Nachweismethoden

Vorbemerkungen: Nach Abschluß der elektrophoretischen Trennung der verschiedenen Homogenate wurden die Agarplatten, die für die Protein-, Glykoprotein- sowie Lipoproteidfärbungen vorgesehen waren, unverzüglich in ein Bad mit 2proz. Essigsäurelösung zur Fixierung der Proteine eingelegt. Die für die verschiedenen Fermentnachweisreaktionen vorgesehenen Platten wurden, ebenfalls unmittelbar nach Beendigung der Elektrophorese, in die jeweiligen, frisch bereiteten Inkubationslösungen eingebracht.

Die Arbeitsvorschriften für die einzelnen Färbe- und Fermentnachweismethoden sind bereits in früheren eigenen Publikationen ausführlich beschrieben worden [90, 91, 92, 93, 118]. In den vorliegenden Untersuchungen kamen folgende biochemische Methoden zur Anwendung:

Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B [97a, b, 118, 252, 253]

Glykoproteiddarstellung mit Perjodsäure und SCHIFFSchem Reagens [118, 252, 255]

Lipoproteidfärbung mit Sudanschwarz B [97a, b, 252]

Proteingebundenes Kupfer mit Alizarin-S-Blau [97, 254]

Coeruloplasmindarstellung durch Oxidasereaktion mit *p*-Phenylendiamin [97, 216]

Nachweis esteraseaktiver Fraktionen [97, 118, 217]

mit Indoxylazetat,

womit vorwiegend Cholinesterasen erfaßt werden,

mit β -Naphthylazetat,

womit auch Ali- bzw. Pseudoesterasen zur Darstellung gelangen

Nachweis von Isoenzymen der Lactatdehydrogenase mit Tetrazoliumblau [218, 256]

Nachweis von Peroxidasen mit Benzidinreagens [97a, b]

Nachweis von Sulfatasen mit tetra-azotiertem-o-Dianisidin [126, 209, 221]

Nachweis amylaseaktiver Komponenten mit der Jod-Stärke-Reaktion [94, 214b]

Nachweis der alkalischen Phosphatase [223].

2.1.1.4 *Ergebnisse*

Vorbemerkungen: Bei der nachfolgenden Beschreibung der elektrophoretisch getrennten und mit den verschiedenen Nachweismethoden darstellbaren Organ- und Tumorproteinen werden die Symbole der bekannten Serumeiweißkörper verwendet, die hier als Bezugssystem dienen. Hiermit wird keineswegs eine Identität von Organ- und Serumproteinen unterstellt, sondern es handelt sich lediglich um elektrophoretisch mit Bluteiweißkörpern vergleichbare Proteinkomponenten. Die Neueinführung anderer Benennungen, etwa die fortlaufende Bezifferung mit römischen oder arabischen Zahlen oder die Einsetzung von Buchstaben des Alphabets bedarf u. E. erst einer internationalen Regelung; sie setzt in jedem Falle eine exakte Zuordnung eines solchen Systems zu bestimmten Proteinen voraus.

Außerdem wird in diesem Abschnitt aus Gründen der besseren Veranschaulichung die Beschreibung der Befunde normaler Gewebeextrakte den Ergebnissen der Tumoranalysen vorangestellt, auch wenn vom Thema her die Reihenfolge umgekehrt liegt.

2.1.1.4.1 Vergleichende Analysen *menschlicher* Normal- und Tumorgewebe [Abb. 2, 3].

Proteinfärbung: Die Befunde der hier untersuchten Homogenate verschiedener *normaler Gewebe* können zwar hinsichtlich ihres Proteinmusters nicht ohne weiteres auf einen Nenner gebracht werden – nahezu jedes Organ besitzt ein für sich eigentümliches Eiweißspektrum – sie zeigen aber mit Bezug auf ein normales Serum untereinander einige Gemeinsamkeiten in qualitativer und quantitativer Hinsicht.

Augenfällig ist zunächst der wesentlich größere Trennbereich der Organhomogenate im Vergleich zu dem des Serums: es finden sich neben Proteinfractionen vom Typ der Albumine, der α -, der β - und γ -Globuline sowohl diesseits des Albumins bis zu drei, weit anodisch wandernder Eiweißkomponenten, als auch jenseits der γ -Globuline häufig ein bis zwei zusätzliche Proteinfractionen. Diese Merkmale treffen vor allem für die Homogenate

der Magen- und Rektumschleimhaut, der Leber, der Niere und auch des Ovars zu. Prostata und Lymphknoten ließen zwei der weit anodisch gewanderten Fraktionen vermissen und zeigten auch keine „ γ -Globulin-Nachfraktionen“, wiewohl im übrigen auch deren Proteinmuster gegenüber dem eines normalen Serums deutliche Unterschiede erkennen ließen. Eine Ausnahme stellt das normale Mammagewebe dar, bei welchem die Ausbeute löslicher Proteine außerordentlich gering war.

Weiterhin unterscheiden sich die verschiedenen Homogenate mit Bezug auf die vergleichbaren Serumproteine in quantitativer Hinsicht: die in allen Organhomogenaten regelmäßig nachweisbare Albuminfraktion stellt sich mit Amidoschwarz 10B wesentlich schwächer angefärbt dar als das Serumalbumin. Die Proteine des α -Globulin- und des β_1 -Bereiches treten hingegen relativ stärker in Erscheinung als die annähernd gleichen Fraktionen des Serums. Die α -Globuline sind vielfach in drei bis vier, die γ -Globuline in zwei bis drei Subfraktionen differenzierbar, auch wenn letztere oftmals nur schwach gefärbt erscheinen.

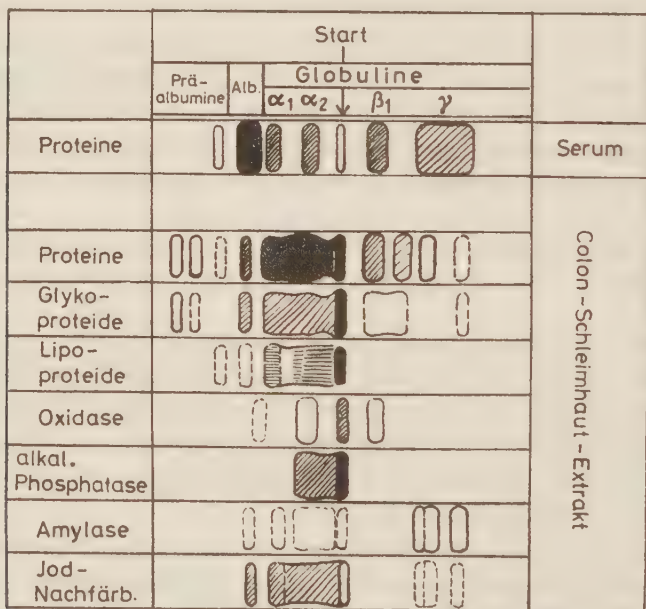


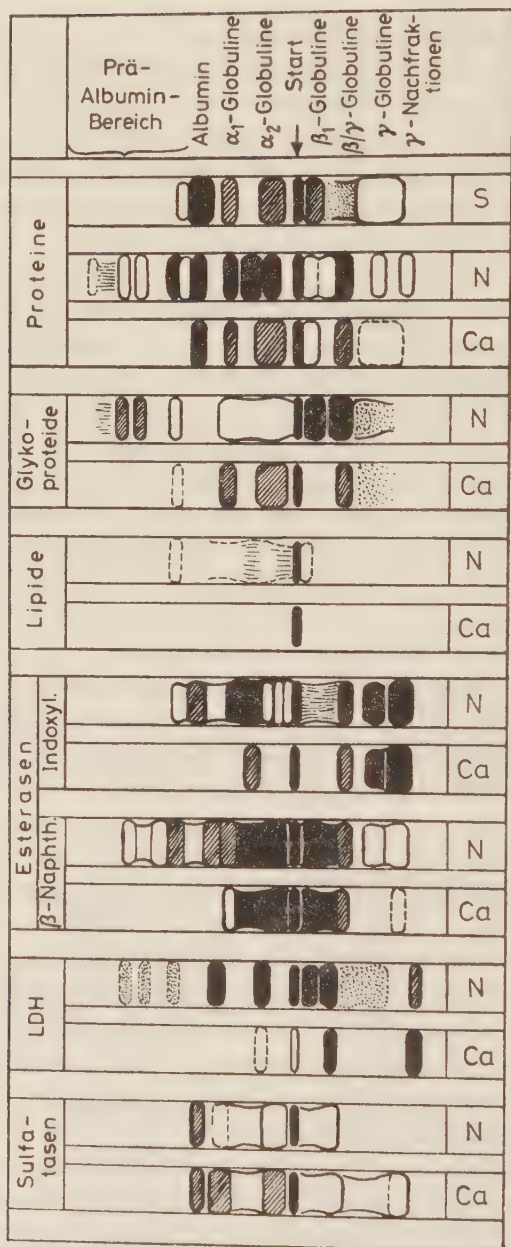
Abb. 2 Halbschematische Darstellung der löslichen Proteine normaler, menschlicher Colon-Schleimhaut nach elektrophoretischer Trennung im Agargel und nachfolgender Färbe- und Fermentreaktionen zur näheren Charakterisierung der einzelnen Fraktionen.

In einzelnen Organextrakten treten die Proteine des α -Globulinbereiches in besonderer Weise hervor, während bei anderen eine relativ gleichmäßige Verteilung der Farbintensität auf sämtliche darstellbare Fraktionen auffällt. Lediglich die Albuminfraktion dominierte in sämtlichen Gewebshomogenaten gleichermaßen. Unter die oben zuerst genannte Gruppe fielen die hier untersuchten Schleimhautextrakte, zur zweiten Gruppe gehören Pankreas, Prostata und Ovar.

Die jeweils verglichenen *Tumorhomogenate* unterscheiden sich von Normalgeweben zunächst durch einen kürzeren Trennbereich, der auch in sich nicht etwa stärker differenziert ist, so daß damit zugleich eine Verminderung von Proteinfractionen offensichtlich wird. In Tumorhomogenaten fehlen die weit vor dem Albumin gewanderten, aber auch die jenseits der γ -Globulinfraktion gelegenen Proteinsysteme. Im allgemeinen werden eine Albuminfraktion, ein relativ stark angefärbter Eiweißkomplex im Bereich der α_1 - und α_2 -Globuline, der zumeist in zwei bis drei Subfraktionen unterteilt werden kann, ein Protein vom Typ der β_2 -Globuline, eine Fraktion, die der Gruppe der β_2 - bzw. γ_1 -Globuline zuzuordnen ist sowie schließlich eine breit darstellbare γ - (γ_2 -)Globulin-Komponente nachweisbar.

Mit Bezug auf die Anfärbbarkeit bzw. die quantitative Relation dieser Proteine zueinander sind folgende Kennzeichen der hier untersuchten Tumorextrakte hervorzuheben: Albumin ist – im Vergleich zum Serum und im Vergleich zu Normalextrakten – zwar weit weniger intensiv darstellbar, erscheint aber unter den Tumoreiweißkörpern selbst am stärksten gefärbt und scharf begrenzt. Während die übrigen verschiedenen Proteinsysteme vorwiegend als Komplexe färberisch schwächer in Erscheinung treten und sich im übrigen vor allem auf den α -Globulinbereich konzentrieren, imponiert die als β_2 -(γ_1)Globulin deklarierte Fraktion infolge ihrer scharfen Abgrenzbarkeit gegen benachbarte Proteine; sie hebt sich außerdem durch eine relativ intensivere Anfärbung mit Amidoschwarz 10 B von den anderen Globulinen ab. Eine derartige Komponente findet sich in den entsprechenden Normalgeweben nur vereinzelt (Niere, Skelettmuskulatur), während sie in den Tumorhomogenaten regelmäßig angetroffen wird.

Die Proteinmuster der verschiedenen Tumorextrakte lassen untereinander, ungeachtet ihrer Herkunft, eine weitgehende Gleichförmigkeit erkennen. Es ergab sich allenfalls eine gewisse Gruppierung in Eiweißspektren mit stärkerer Anreicherung des α -Globulinkomplexes und in solche mit einer relativ besseren Darstellbarkeit der Proteinsysteme des β/γ -Globulinbereiches. Ausnahmen stellten die Homogenate des Hypernephroms und des



S = Serum
 N = Normalgewebe
 Ca = Carcinomgewebe

Abb. 3 Halbschematische Darstellung der löslichen Proteine normaler, menschlicher Magen-Schleimhaut und eines Magen-Carcinoms nach agarelektrophoretischer Trennung und kombinierter Färbe- und Fermentnachweisverfahren.

primären Leberzellcarcinoms dar; hier ließen sich noch zwei Albumin-Vorfractionen nachweisen.

Glykoproteidfärbung: Bei Färbung der elektrophoretisch getrennten *Normalhomogenate* mit Perjodsäure und SCHIFFSchem Reagens waren praktisch alle Proteinfractionen, die also auch mit Amidoschwarz 10 B anfärbbar waren, mit Ausnahme der Albuminfraction, aber einschließlich der Albumin-vorfractionen, qualitativ nachweisbar. Im Albuminbereich ergab sich regelmäßig ein Aussparungsphänomen.

Quantitativ erweisen sich die α - und auch die β_1 -Globuline am intensivsten gefärbt, was besonders deutlich wird an den Schleimhautextrakten des Magens und Colons. Die Albumin-vorfractionen imponieren wegen ihrer Schärfe und – im Vergleich zur Amidoschwarz-Färbung – relativ stärkeren Anfärbbarkeit.

Auch die Proteine der *Tumorhomogenate* werden mit der Glykoproteidfärbung unter Aussparung des Albumins, sämtlich darstellbar. Relativ stark treten die α -, insbesondere die α_2 -Globuline hervor, deutlich erscheinen aber auch die mit β_1 - sowie die als β_2 (γ_1) Globulin bezeichneten Fractionen, während das breit verlaufende γ - (γ_2 -) Globulin nur schwach gefärbt ist.

Lipoproteidfärbung: Die Befunde nach Färbung mit Sudanschwarz B waren bei den Homogenaten der *Normalgewebe* wenig ergiebig: eine regelmäßig reproduzierbare und in allen Organen nachweisbare, relativ intensive Färbung ergab sich praktisch nur im Bereich der Auftragestelle. In Einzelfällen, so bei Magen- und Colonschleimhaut, aber auch im Nierenextrakt, waren darüber hinaus in der Zone schnell wandernder α_1 -Globuline sowie im Bereich von α_2 -Globulinen positive Farbreaktionen wahrnehmbar.

In den *Tumorhomogenaten* konnten mit Regelmäßigkeit drei Farbzonen dargestellt werden, eine an schnell wandernde α_1 -Globuline, eine zweite an α_2/β_1 -Globuline gebunden, die dritte im Bereich und unmittelbar vor der Auftragestelle. Unterschiede in der Farbintensität waren im Vergleich zu den Befunden an Normalgeweben gegeben, jedoch nicht gerade eklatant.

Proteingebundenes Kupfer: Die Farbreaktion mit Alizarin-S-Blau zum Nachweis von proteingebundenem Kupfer war insgesamt außerordentlich schwach ausgefallen.

In *Normalgeweben* konnte im allgemeinen nur eine hellblaue Tönung der Auftragsstelle wahrgenommen werden. Lediglich in Leber- und Nieren-

geweben ließen sich auch im Albumin/ α_1 -Globulin-Bereich sowie an der Stelle von α_2 -Globulinen Farbspuren aufzeigen.

In *Tumorphomogenaten* waren in zwei Beispielen, Magenszirrhus und Prostata-Carcinom, außer an der Auftragestelle, im α_2 -Globulinbereich eine relativ breite und in einer Zone schnell wandernder α_1 -Globuline eine schmale Komponente hellblau anfärbbar.

Coeruloplasmindarstellung: Der fermentative Kupfernachweis erfolgt über die Oxidasereaktion mit p-Phenylendiamin, die in quantitativ linearer Relation zur Coeruloplasminkonzentration abläuft. Das färberisch darstellbare Oxidationsprodukt (Braunfärbung) entspricht somit der quantitativen Anreicherung von Coeruloplasmin.

In den Homogenaten der analysierten *Normalgewebe* ließ sich Coeruloplasmin mit Regelmäßigkeit in einem umschriebenen Bereich von α_2 -Globulinen und an der Auftragestelle nachweisen.

In gleicher Weise gelang die Darstellung von Coeruloplasmin in einzelnen *Tumorphomogenaten* (Primäres Lebercarcinom, Hypernephrom) jedoch fiel hier bereits die weitaus schwächere Färbung als in den entsprechenden Normalgeweben auf. In den meisten Homogenaten des malignen Gewebes konnte der Nachweis oxidaseaktiver Komponenten nicht einwandfrei erbracht werden.

Esterasen: Esterasen können mit zwei verschiedenen Farbstoffreaktionen zur Darstellung gebracht werden, mit Indoxylazetat und mit β -Naphthylazetat; dabei scheint dem Indoxylazetat eine hohe Spezifität für den Nachweis von Cholinesterasen zuzukommen, während mit β -Naphthylazetat zugleich auch Pseudoesterasen erfaßt werden (Abb. 4).

In den hier untersuchten *Normalgewebshomogenaten* konnten mit Indoxylazetat bis zu 9 elektrophoretisch differenzierbare esteraseaktive Komponenten abgegrenzt werden. Sie verteilen sich vom Präalbuminbereich über die gesamte Trennstrecke bis in die Zone der γ -Globuline. Gemessen an der Farbintensität finden sich die im β/γ -Bereich gelegenen Fraktionen quantitativ stärker vertreten als die anodisch gewanderten. In einem vergleichsweise mitanalysierten Serum kommt nur eine Komponente, und zwar eine Fraktion im α_2 -Bereich, zur Darstellung.

Mit β -Naphthylazetat war in allen Normalgeweben die Farbreaktion insgesamt stärker, auch die Anzahl der Fraktionen größer. Es konnten hier bis

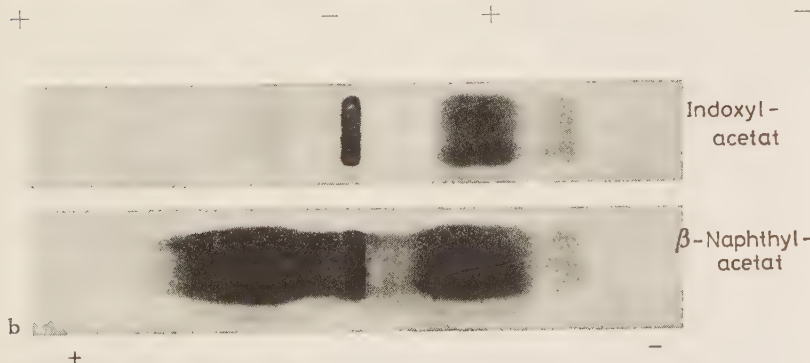
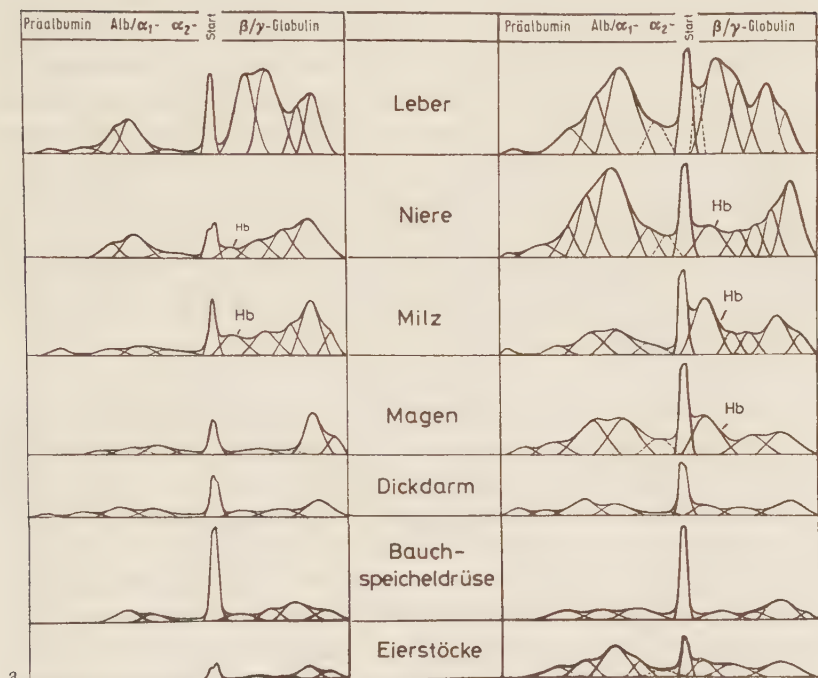
Färbung mit
IndoxylacetatFärbung mit
 β -Naphthylacetat

Abb. 4 Esteraseaktive Fraktionen in verschiedenen menschlichen Organhomogenaten.
a -- b a) Diagramme der agaroselektrophoretisch getrennten und nachfolgend mit Indoxylacetat (links) bzw. mit β -Naphthylacetat (rechts) behandelten Organhomogenate.

b) Agarelektrophoretische Befunde eines normalen Leberhomogenats nach Behandlung mit Indoxylacetat (oben) sowie mit β -Naphthylacetat (unten).

zu 12 unterschiedlich gewanderte esteraseaktive Komponenten aufgezeigt werden. Auch sie verteilten sich vom Präalbuminbereich über die gesamte Trennstrecke bis in die Zone der γ -Globuline. Im Vergleich zum Verteilungsmuster der mit Indoxylazetat dargestellten Fraktionen fiel bei dieser Untersuchungsserie eine relativ stärkere Anreicherung der anodisch gewanderten Enzyme auf. Eine Ausnahme bildete lediglich der Magenschleimhautextrakt, bei welchem auch mit β -Naphthylazetat vorwiegend kathodisch gewanderte Fraktionen imponierten. Das menschliche Serum zeigte zwei breite Farbzonen im Albumin/ α_1 -Globulin-Bereich und im Gebiet der α_2 -Globuline, die ihrerseits jeweils in mindestens zwei Komponenten zu differenzieren waren. Jenseits der Auftragestelle, d.h. in der Zone kathodisch gewandelter Proteine, konnten keine esteraseaktiven Komponenten nachgewiesen werden.

In *Tumorhomogenaten* fiel bei Untersuchung mit beiden Farbstoffreaktionen zunächst eine relative Verringerung der Zahl an fermentaktiven Fraktionen auf. Weiterhin war mit Bezug auf das Verteilungsmuster festzustellen, daß die Befunde der mit Indoxylazetat darstellbaren Komponenten und die der mit β -Naphthylazetat nachweisbaren Esterasen weitgehend übereinstimmen; die Indoxylazetatreaktion war nur insgesamt erheblich schwächer ausgefallen. Im Vergleich zu den analysierten Normalgeweben waren vielfach deutliche Unterschiede in der Konstellation der esteraseaktiven Fraktionen wahrzunehmen; sie bestanden entweder darin, daß in den Fällen, in welchen im Normalgewebe eine deutlichere Darstellung der anodisch gewanderten Esterasen gegeben war, im Tumor der kathodisch gewanderte Bereich stärker in Erscheinung trat (Magenwand – Szirrhosis, Lymphknoten – Hodgkin-Sarkom), oder daß im Tumorextrakt eine Niveaugleichheit der Farbintensität vorlag (Magenschleimhaut – Magen-Carcinom), oder daß in Fällen, in welchen im Normalgewebe die Esterasen des β/γ -Globulin-Bereiches deutlicher gefärbt waren, im Tumorhomogenat die anodisch gewanderten Fermente besonders hervortraten (Colonschleimhaut – Rectum-Carcinom, Prostata – Prostata-Carcinom).

Somit scheint es, daß für die hier untersuchten Tumorhomogenate mit Bezug auf das Esterase-Verteilungsmuster keine besonderen Konstellationstypen hervorzuheben sind. Vergleicht man jedoch die einzelnen Tumorhomogenate untereinander, so kann festgestellt werden, daß *Carcinom*extrakte vorwiegend anodisch gewanderte Esterasen aufweisen, daß aber Extrakte von *Sarkomen* und *szirrhösen* Malignomen vorwiegend Esterasen des β/γ -Globulin-Bereiches enthalten.

Lactatdehydrogenasen: In den elektrophoretisch getrennten Homogenaten von *Normalgeweben* konnten mit der hier angewandten Tetrazolium-Methode nach van der HELM im allgemeinen fünf Isoenzyme der Lactatdehydrogenase (LHD) dargestellt werden. Nach internationaler Übereinkunft werden diese mit LDH I, II, III, IV, V bezeichnet. Die Verteilungsmuster der einzelnen Organextrakte zeigten tiefgreifende Unterschiede [s. auch Abb. 5].

Die Schleimhauthomogenate des Magens und Colons, aber auch die Homogenate von Ovar und Prostata ergaben eine relative Niveaugleichheit in der Farbintensität der einzelnen Fraktionen. Demgegenüber zeigten die Extrakte der Niere, der normalen Lymphknoten sowie des Pankreas eine deutlich stärkere Farbreaktion der anodisch gewanderten Isoenzyme I und II, während bei Leber und Magenwand die Fraktionen IV und V auffallend stark in Erscheinung traten. Das Homogenat des normalen Mamma-Parenchyms erwies sich als außerordentlich arm an LDH.

Im Serum eines Gesunden ließen sich ebenfalls fünf Isoenzyme der LDH darstellen; sie erwiesen sich jedoch als relativ schwach gefärbt. Am deutlichsten erschienen die LDH I, II und III.

Die analysierten *Tumorphomogenate* zeigten regelmäßig eine Reduzierung der fünf Isoenzyme auf eine bis maximal drei Fraktionen. Unter ihnen imponierte die mehr oder weniger intensiv gefärbte LDH V. In Einzelfällen waren die übrigen vier LDH-Isoenzyme noch schwach oder spurenhaf nachweisbar. Immerhin ergab sich für die Tumorextrakte ein relativ einheitliches Bild mit der offenbar tumorspezifischen Anreicherung an LDH V, ungeachtet dessen, welchem LDH-Verteilungsmuster das Ursprungsgewebe des Tumors zuzuordnen war. Auch in den Fällen, bei welchen bereits im Normalgewebe die Fraktionen der Isoenzyme IV und V stark ausgeprägt waren (Leber!), imponierte der entsprechende Tumorextrakt durch seine isolierte Anreicherung an LDH V. Ausgenommen hiervon war lediglich das Hypernephrom.

Peroxidasen: In *Normalgeweben* konnten mit der Benzidinprobe bis zu fünf Fraktionen nachgewiesen werden. Sie fanden sich vorwiegend im anodisch gewanderten Trennbereich. Darüber hinaus waren Auftragestelle und die Zone von β_1 -Globulinen durch starke Farbreaktion ausgezeichnet. Die Relationen dieser Komponenten fanden sich von Organ zu Organ unterschiedlich. Das Serum eines Gesunden weist demgegenüber praktisch nur eine peroxidaseaktive Fraktion auf, und zwar im Bereich der α_2 -Globuline.

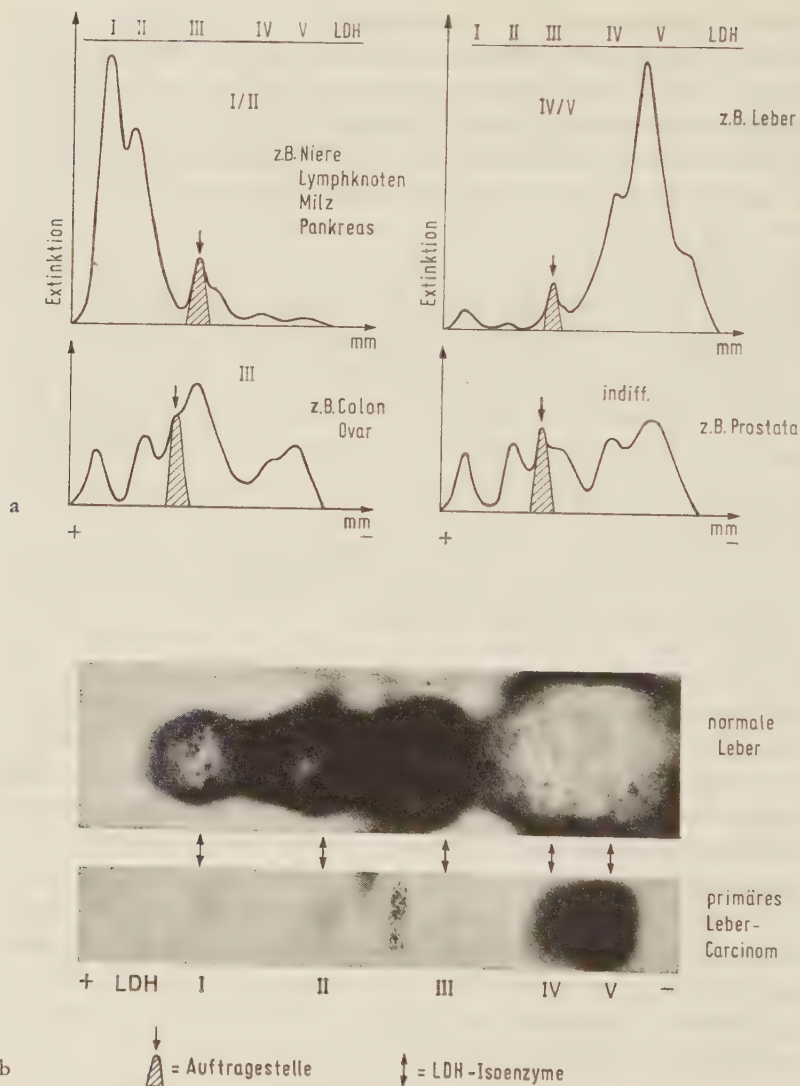


Abb. 5 Isoenzyme der LDH in verschiedenen, menschlichen Organhomogenaten.

a — b a) Diagramm-Typen der LDH-Isoenzyme aus Homogenaten menschlicher Normalgewebe.

b) Gegenüberstellung der LDH-Isoenzyme normalen Lebergewebes und eines primären Leber-Carcinoms.

(Die helle Fleckenbildung in den LDH-aktiven Fraktionen ist durch das vorzeitliche Trocknen der bereits gefärbten Platte unter Filtrierpapier bedingt und somit als Artefakt zu betrachten.)

Die Homogenate der untersuchten *Malignome* zeigten zum Teil gleichartige Bilder wie das Normalgewebe (Leber – Leber-Carcinom, Niere – Hypernephrom), zum Teil aber auch eine Verminderung der Peroxidasen bzw. eine Reduzierung auf eine breitbasige fermentaktive Fraktion im β_1/β_2 -Globulin-Bereich.

Sulfatasen: An Sulfatasen konnten in den Homogenaten von *Normalgeweben* bis zu vier elektrophoretisch und färbereich differenzierbare Fraktionen nachgewiesen werden. Eine von ihnen findet sich im Albumin/ α_1 -Globulin-Bereich, zwei weitere sind in der Zone der α_2 -Globuline wahrzunehmen, eine vierte um die Auftragestelle bzw. an der Stelle von β_1 -Globulinen. Von Organ zu Organ ergaben sich Unterschiede in der Relation dieser fermentaktiven Komponenten bzw. in der Farbintensität.

Das Serum eines Gesunden zeigte insgesamt zwei anodisch gewanderte sulfataseaktive Fraktionen; sie ließen sich im wesentlichen in den α_2 -Globulin-Bereich projizieren.

Die entsprechenden *Tumorbomogenate* zeigten keine nennenswerten Unterschiede in qualitativer Hinsicht. Quantitativ erschienen sie – das gilt vor allem für die Fraktionen des α_2 -Globulin-Bereiches – stärker gefärbt als dieselben Fraktionen des vergleichbaren Normalgewebes.

Amylasen: Amylaseaktive Fraktionen fanden sich in sämtlichen hier untersuchten *Normalgeweben* in nur einer umschriebenen Zone des elektrophoretischen Trennbereiches, im Bereich der β_2/γ -Globuline. Es lassen sich zu meist zwei nahe beieinander gelegene, scharf getrennte Komponenten nachweisen. Dies gilt insbesondere für die Schleimhautextrakte des Magens und des Dickdarms (bei welchem im übrigen sogar drei amylaseaktive Zonen darstellbar waren), aber auch für die Leber, das Ovar und sämtliche andere Organe mit Ausnahme des Pankreas. Hier fiel eine hohe Amylaseaktivität ausschließlich in der Zone der γ_2 -Globuline auf.

Im Serum eines Gesunden ließen sich mit der Jod-Stärke-Reaktion ebenfalls zwei dicht nebeneinander liegende, jedoch scharf getrennte amylaseaktive Fraktionen nachweisen. Diese waren, gemessen an dem Reaktionsausfall, von nur geringer Fermentaktivität bzw. in nur geringer Konzentration enthalten.

Die untersuchten *Tumorbomogenate* ließen zum Teil die gleichen Befunde wie im Normalgewebe erkennen. Häufig war jedoch eine Differenzierung in zwei Komponenten nicht wahrnehmbar. Eine quantitativ unterschiedliche

Fermentaktivität konnte im Vergleich zu Normalgewebe nicht objektiviert werden.

Alkalische Phosphatase: Alkalische Phosphatase-Aktivität war unter den *Normalgeweben* mit Regelmäßigkeit an α -, insbesondere an α_2 -Globuline gebunden. Besonders stark waren die Farbreaktionen in Schleimhautextrakten, aber auch in Leber-, Nieren-, Lymphknoten- und Ovarialhomogenaten. Die übrigen Organe zeigten eine quantitativ geringere Fermentaktivität.

Auch im Serum eines Gesunden findet sich die alkalische Phosphatase an der Stelle von α_2 -Globulinen. Die Farbreaktion ist jedoch außerordentlich schwach.

In den analysierten *Tumorhomogenaten* konnte alkalische Phosphataseaktivität im wesentlichen im α_2 -Bereich, darüber hinaus vielfach auch an der Auftragestelle, nachgewiesen werden. Sie erwies sich mit Regelmäßigkeit, unabhängig von der geweblichen Herkunft des Tumors, relativ stark konzentriert, so daß im Vergleich mit dem jeweiligen Normalhomogenat eine konstant größere Anreicherung dieses Fermentes in malignen Geweben auf-
fiel.

2.1.1.4.2 Vergleichende Analysen von normalem Muskelgewebe (Skelettmuskulatur) und transplantablen Tumoren der Ratte [Abb. 6a, b].

Vorbemerkungen: Zur Verfügung standen YOSHIDA-Sarkom und WALKER-Carcinom, die hier im Vergleich zu normaler Skelettmuskulatur untersucht wurden. Außerdem wurde bei jedem Analysensatz ein normales Serum des Tumorträger-Tieres, d.h. hier einer unbehandelten Ratte mit-
angesetzt.

Die Untersuchungsergebnisse von YOSHIDA-Sarkom und WALKER-Carcinom zeigten insgesamt so gute Übereinstimmung, so daß in der folgenden Beschreibung der Einzelresultate auf eine getrennte Behandlung verzichtet werden kann. Auch ergaben sich hier überraschenderweise keine tiefgreifenden Unterschiede zwischen dem zugrundeliegenden Normalgewebe und den Malignomen.

Proteinfärbung: Aufgrund der agarelektrophoretischen Trennung und nachfolgenden Färbung mit Amidoschwarz 10 B konnten im *normalen* Skelettmuskelhomogenat 9 Fraktionen differenziert werden. Bei Vergleich mit dem unter gleichen Bedingungen mitangesetzten Serum einer unbehandelten Ratte handelt es sich bei diesen Proteinkomponenten um zwei Frak-

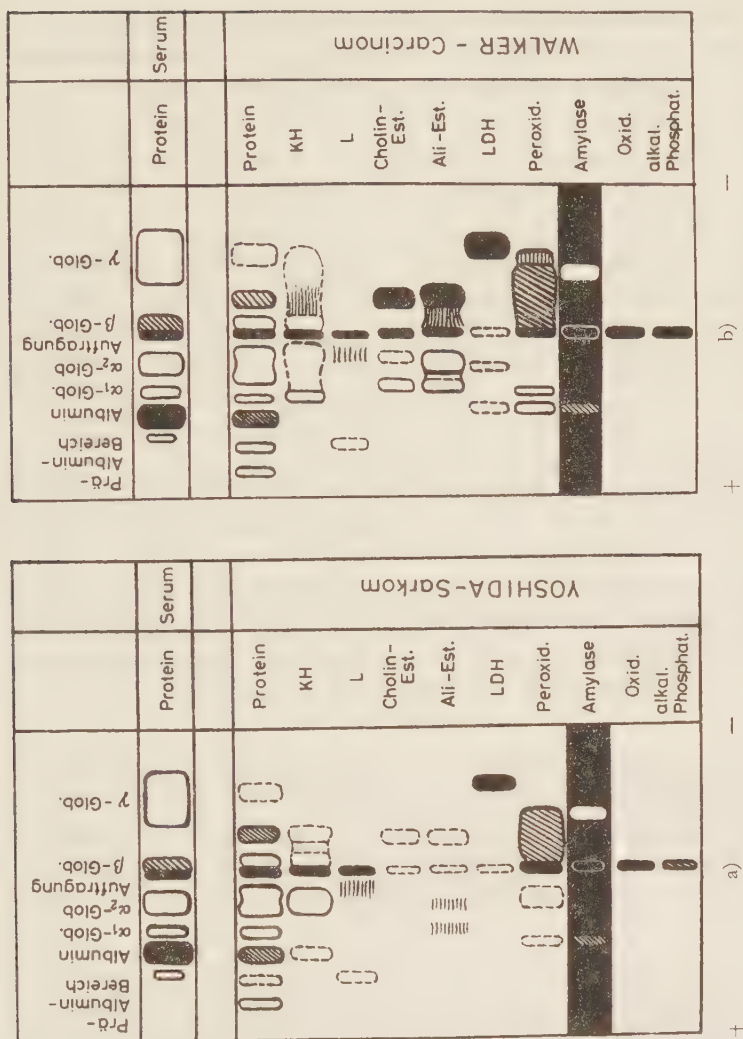


Abb. 6 a—b Agarelektrophoretische Befunde der Homogenate von YOSHIDA-Sarkom (a) sowie WALKER-Carcinom (b) mit biochemischer Charakterisierung der darstellbaren Proteinkomponenten.

tionen mit der Wanderungsgeschwindigkeit von Präalbumin, wovon die weiter anodisch gelegene relativ stärker hervortritt als die unmittelbar vor dem Albumin gelegene; es handelt sich ferner um eine Fraktion mit der Wanderungsgeschwindigkeit des Albumins, weiterhin um eine α_1 -Globulin-Fraktion, um einen breiten α_2 -Komplex, der in einzelnen Analysen deutlich zwei unterschiedlich gewanderte Subfraktionen erkennen ließ, außer-

dem um eine schwach anfärbbare β_1 -Komponente sowie um ein deutlich hervortretendes β_2 - bzw. γ_1 -Protein; eine dem Serum- γ -Globulin zuzuordnende Eiweißfraktion war im normalen Muskelextrakt nur als schwache Farbschliere nachweisbar.

In den *Tumorphomogenaten* ließen sich ebenfalls 8 bis 9 Proteinfractionen elektrophoretisch und färberisch darstellen. Ihr Verteilungsmuster entsprach weitgehend dem des zugrundeliegenden Normalhomogenates. Auffallend war lediglich, daß in den Homogenaten der hier untersuchten Malignome die als β_2 -Globuline bezeichnete Fraktion wesentlich stärker in Erscheinung trat, und daß andererseits die γ -Globuline in einzelnen Analysen nur spurenhaf nachweisbar waren, ja sogar vermißt wurden.

Glykoproteide: Die Befunde von *Normal-* und *Tumorphomogenaten* können hier gemeinsam abgehandelt werden, da sie nahezu übereinstimmten. Bei Färbung mit Perjodsäure und SCHIFFSchem Reagens fiel in erster Linie ein Komplex im Bereich der α_2 -Globuline auf. Eine schwache Farbzone ergab sich darüber hinaus an der Stelle der β_1 - und der γ_1 -Globuline sowie im Bereich der schnell wandernden α_1 -Globuline. Der Albuminbereich zeigte eine Farb-Aussparung, die Auftragestelle war deutlich mitangefärbt.

Lipoproteide: Auch hier können die Befunde des *Normalextraktes* und die der *Tumorphomogenate* in einem besprochen werden.

Mit Sudanschwarz B ergab sich eine schwache Farbreaktion vor allem an der Auftragestelle, ferner im Bereich langsam wandernder α_2 -Globuline sowie in einer umschriebenen Zone unmittelbar vor dem Albumin.

Esterasen: Im *Normalhomogenat* konnten mit *Indoxylazetat* sowohl im anodisch gewanderten als auch im kathodisch gelegenen Trennbereich einzelne, schwach angefärbte Komponenten differenziert werden. An relativ stärkerer Intensität imponierten die Esterasen des β/γ -Globulinsystems. Die Befunde mit *β -Naphthylazetat* sind mit den vorgenannten Ergebnissen im wesentlichen gut übereinstimmend, jedoch ließen sich die Fraktionen insgesamt deutlicher zur Darstellung bringen, außerdem war hier der anodisch gewanderte Bereich relativ stärker vertreten.

Im Serum einer unbehandelten Ratte waren mit beiden Methoden ausschließlich im anodisch gewanderten Trennbereich esteraseaktive Fraktionen nachzuweisen.

Im Homogenat der hier untersuchten *Malignome* ließ sich mit Indoxylazetat lediglich im Bereich der β/γ -Globuline eine zwar schwach gefärbte aber relativ scharf begrenzbare Fraktion nachweisen. Mit β -Naphthylazetat erschien an gleicher Stelle eine wesentlich deutlicher gefärbte Komponente, außerdem ließen sich mit dieser Methode auch Spuren im Bereich der α_1 - und der α_2 -Globuline aufzeigen.

Lactatdehydrogenase: Im *normalen* Skelettmuskelhomogenat konnten mit der LDH-Nachweismethode von van der HELM insgesamt 3 bis 4 ferment-aktive Komponenten nachgewiesen werden. Sie entsprechen der LDH, II, III, IV und V, wobei die Isoenzyme III, insbesondere aber IV und V färbereich am deutlichsten in Erscheinung traten.

Im Serum der unbehandelten Ratte konnten lediglich zwei bis drei schwach gefärbte LDH-Isoenzyme vom Typ der LDH I, II und III aufgezeigt werden. Im kathodisch gewanderten Bereich waren praktisch keine ferment-aktiven Komponenten nachweisbar.

In den *Tumorhomogenaten* konnte jeweils nur eine, intensiv gefärbte und scharf begrenzte Fraktion im γ -Globulin-Bereich (LDH V) dargestellt werden. In wenigen Analysen zeigten sich darüber hinaus noch Spuren von Isoenzymen der LDH I und II.

Peroxidase: In *Normal-* wie in *Tumorhomogenaten* zeigte sich Peroxidaseaktivität zufolge der Benzidinreaktion in einem Bereich von der Auftragestelle bis in die Gruppe von α_1 -Globulinen. Es ließen sich hierin insgesamt drei verschieden gewanderte Komponenten differenzieren, eine im α_1 -Bereich, ein Komplex im Bereich der α_2 -Globuline sowie eine Fraktion an der Stelle von β_1 -Globulinen.

Im Serum der unbehandelten Ratte war Peroxidaseaktivität lediglich an der Auftragestelle und in dem Gebiet von α_2 -Globulinen nachweisbar.

Tieferegreifende Unterschiede zwischen den Befunden des Normalgewebes und denjenigen der Tumorhomogenate waren hier nicht auffällig.

Amylasen: Aufgrund der Jod-Stärke-Reaktion konnte sowohl im *Normal-extrakt* als auch in den *Tumorhomogenaten* eine scharf begrenzte Aufhellungszone in einem Bereich zwischen β_1 - und γ -Globulinen dargestellt werden. Darüber hinaus ließ sich eine rötlich getönte Aufhellungszone im Bereich schnell wandernder α_1 -Globuline aufzeigen.

Auch im Serum der unbehandelten Ratte ließ sich eine amylaseaktive Fraktion im kathodisch gewanderten Bereich von Globulinen nachweisen.

Die Farbreaktionen zum Nachweis *proteingebundenen Kupfers* durch Alizarin-S-Blau wie auch des *Coeruloplasmins* mit Hilfe der *Oxidase-reaktion*, aber auch die Farbreaktion zum Nachweis *alkalischer Phosphataseaktivität*, verliefen praktisch negativ. Das gilt ebenso für die hier untersuchten Normal- wie für die Tumorphomogenate.

2.1.2 Immunologische Analysen

2.1.2.1 Allgemeine Versuchsanordnung

Zum Nachweis antigener Faktoren und insbesondere zur Aufklärung von Unterschieden in der Antigenkomposition von Normal- und Tumorgewebshomogenaten wurden dieselben Organ- und Tumorphomogenate wie oben nunmehr mit immunologischen Methoden analysiert. Gewählt wurden hierzu die zweidimensionale Immundiffusion im Agargel sowie die Immunelektrophorese. Als Antigen dienten jeweils die Organ- bzw. Tumorphomogenate, als Antikörper spezifische polyvalente Antiseren gegen diese Gewebsextrakte sowie ein entsprechendes speziesspezifisches Serumprotein-Antiserum. Außerdem wurden Versuche mit verschiedentlich absorbierten Antiseren vorgenommen.

2.1.2.2 Untersuchungsgut

Das Untersuchungsgut entspricht den bereits oben (s. S. 9 und 10) aufgeführten

verschiedenen menschlichen Normal- und Tumorphomogenaten sowie dem normalen Muskelgewebshomogenat der Ratte und den Homogenaten rattentransplantabler Tumoren vom Typ des YOSHIDA-Sarkoms und des WALKER-Carcinoms.

2.1.2.3 Methodik

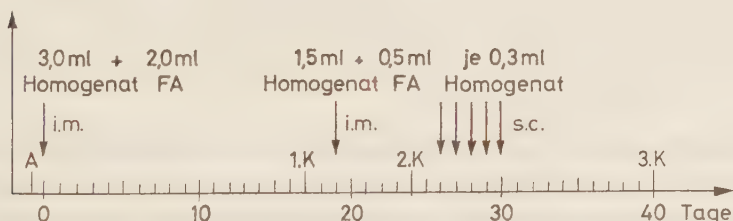
2.1.2.3.1 Gewinnung spezifischer Antiseren

Für die vorliegenden Untersuchungen waren folgende Antiseren erforderlich:

Spezifische Antiseren gegen die löslichen Proteine normaler Gewebs-homogenate vom Menschen sowie des normalen Skelettmuskelhomo-genats der Ratte,
 spezifische Antiseren gegen die löslichen Proteine von Tumorhomo-genaten des Menschen sowie der rattentransplantablen YOSHIDA- und WALKER-Tumorextrakte,
 spezifische Antiseren gegen die Serumproteine der entsprechenden Trägerspezies, hier Mensch und Ratte.

Während die Serumprotein-Antiseren als handelsübliche Präparate zur Ver-fügung standen⁶, mußten die spezifischen Gewebs-Antiseren selbst herge-stellt werden.

Die Anti-Organseren sowie die Anti-Tumorseren wurden im Tierversuch durch aktive heterologe Sensibilisierung mit den verschiedenen Organ-homogenaten gewonnen. Für jedes einzelne Gewebshomogenat (Pool) wur-den zwei Kaninchen in Versuch genommen. Die höchsten Antikörpertiter bzw. die günstigste Ausbeute an präzipitierenden Gewebsantikörpern ergab sich aufgrund früherer Voruntersuchungen nach folgendem Sensibilisie-rungsmodus:



A = Ausgangswerte

1. K = 1. Kontrolluntersuchung
2. K = 2. Kontrolluntersuchung
3. K = 3. Kontrolluntersuchung

Die applizierten Antigenmengen beziehen sich auf Kaninchen mit einem Körpergewicht von 2000 g.

Die Antikörperausbeute wurde während des Sensibilisierungsversuches mit den geläufigen Nachweismethoden zirkulierender Antikörper ermittelt. So-mit kamen die passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN sowie die

⁶ Antihumanserum von der Ziege, Behringwerke Marburg/Lahn.
 Anti-Ratte-Serum vom Kaninchen, Behringwerke Marburg/Lahn.

zweidimensionale Immundiffusion nach OUCHTERLONY zur Anwendung, für die Titerbestimmung im Agargel der Rosettentest nach GABL [118]. Nach Abschluß der Sensibilisierungsserie wurden den Tieren 40 bis 60 ml Blut aus der Ohrvene entnommen. Nach mehrstündigem Stehen des Blutes bei Laboratoriumstemperatur wurden die Blutproben bei 3500 Upm zentrifugiert und das klare, überstehende Serum sorgfältig abpipettiert. Es wurden nur haemolysefreie und auch nur völlig klare Seren für die weiteren Analysen verwendet.

2.1.2.3.2 Passive Haemagglutinationsreaktion

zum Nachweis agglutinierender Antikörper im Serum sensibilisierter Organismen.

Es wurde die Technik nach den Originalangaben von BOYDEN in gering modifizierter Form angewandt [33, 224].

Im *Prinzip* handelt es sich hierbei um die Bindung antigenen Materials an die Oberfläche tannierter Erythrozyten der Blutgruppe 0, rh-negativ, und deren Agglutination bei Kontakt mit spezifischen Antikörpern aus dem Serum sensibilisierter Tiere. Durch die Gegenwart der Erythrozyten wird die sonst okkult ablaufende Agglutinationsreaktion sichtbar gemacht. Das Anlegen einer geometrischen Verdünnungsreihe des Antiserums gestattet das Ablesen der Antikörperkonzentration in Titerstufen.

Methodische Einzelheiten zu dieser Technik sind dem einschlägigen Schrifttum zu entnehmen [33, 95, 224].

Angewandt wurde die passive Haemagglutinationsreaktion im Rahmen der Sensibilisierungsversuche an Kaninchen mit den verschiedenen Gewebs- und Tumorextrakten, ferner in der Beobachtungsreihe tumortragender Ratten ohne weitere Behandlung, schließlich bei den anschließenden Versuchsserien tumortragender Ratten, welche auf verschiedene Weise zusätzlich behandelt wurden.

2.1.2.3.3 Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion im Agargel

Zum Nachweis spezifischer, präzipitierender Antikörper im Serum sensibilisierter Organismen hat sich die Immunodiffusion im Agargel nach OUCHTERLONY [187a-c] in zweifacher Weise bewährt: sie gestattet erstens bei Mischantigenen bzw. polyvalenten Antigenen eine quantitative und qualitative Differenzierung in einzelne Präzipitationslinien, und sie ermöglicht zweitens vergleichende Analysen zwischen verschiedenen, spezifischen Präzipitationssystemen (= Eiweißsystemen).

Das *Prinzip der Methode* beruht auf der zweidimensionalen Diffusion eines Antigens gegen einen spezifischen Antikörper (antikörperhaltiges Serum) unter Bildung unlöslicher Präzipitationslinien an den Berührungsstellen dieser beiden Systeme. Vergleicht man verschiedene Präzipitationslinien miteinander, so gelten folgende Grundgesetze: Verschmelzende Linien bedeuten Identität, Spornbildungen weisen auf teilweise Identität und auf die Existenz zusätzlicher, nicht identischer determinanter Proteingruppen hin, Kreuzungsphänomene sagen aus, daß die gekreuzten Systeme keine Identität besitzen.

Methodische Einzelheiten zur zweidimensionalen Immundiffusion im Agargel finden sich im einschlägigen Schrifttum, u. a. in eigenen früheren Arbeiten [88b, 118, 124].

Angewandt wurde diese Technik in allen Untersuchungs- und Versuchsserien wie unter 2.1.2.3.1 (S. 30), außerdem im nachfolgenden Analysengang der menschlichen Organ- und Tumorphomogenate sowie der Muskel- und Tumorphomogenate der Ratte.

2.1.2.3.4 Immunelektrophorese

Zur Darstellung spezifischer Antigenkomponenten und deren Charakterisierung aufgrund ihrer unterschiedlichen Beweglichkeit in einem elektrischen Feld und ihrer unterschiedlichen Diffusionsfähigkeit in einem Agargel wurde die Immunelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS (s. u.) gewählt.

Im *Prinzip* handelt es sich hierbei um zwei getrennt ablaufende Vorgänge, die einander jedoch in einem fortlaufenden Analysengang ergänzen: die Elektrophorese eines Proteingemisches oder Proteinsystems in einem Agargel und die nach Abschluß der Elektrophorese erfolgende Immundiffusion der getrennten Proteinkomponenten gegen ein von einem seitlich angebrachten Längskanal linear einströmendes, polyvalentes oder auch monovalentes spezifisches Antiserum. An den Berührungsstellen von Antikörper und Antigen bilden sich unlösliche Präzipitate in Gestalt von unterschiedlich stark gekrümmten Bögen. Lage, Form, Intensität sowie das Verhalten der einzelnen Präzipitationsbögen zueinander entstehen aufgrund von Gesetzmäßigkeiten, weshalb diesen Kriterien Bedeutung bei der Interpretation immunelektrophoretischer Befunde zukommt.

Methodische Einzelheiten finden sich im einschlägigen Schrifttum [96a-c, 97a, b, 98], unter welchem auch mehrere eigene ausführliche Beschreibungen eingereiht sind [90, 214a].

Angewandt wurde die Immunelektrophorese vor allem zur Aufklärung der Antigenkomponenten der verschiedenen Gewebe.

2.1.2.3.5 Papierelektrophorese

Die Papierelektrophorese wurde als indirekte Antikörper-Nachweismethode in die vorliegenden Untersuchungstechniken mit aufgenommen. Sie dient bekanntlich der Aufklärung von Serumweißverschiebungen unter pathologischen Bedingungen.

Methodisch wurde nach den Angaben von GRASSMANN und HANNIG [104, 215] vorgegangen.

Angewandt wurde die Papierelektrophorese bei den Sensibilisierungsreihen der mit Gewebshomogenaten behandelten Kaninchen. Hier interessierte vor allem das Verhalten der Serum- γ -Globuline und der α -Fraktionen. Außerdem wurde die Methode in den später folgenden Untersuchungsreihen mit tumortragenden Ratten mitangewandt.

2.1.2.3.6 Adsorption spezifischer Gewebs- bzw. Tumorantikörper an speziesspezifische Proteinantigene zur Gewinnung organ- bzw. tumorspezifischer Immunsereen

Je 5,0 ml eines spezifischen Antiserums wurden in einem Spitzglas sukzessive das konträre, polyvalente Antigen zugefügt, das Röhrchen 2 Std. bei 37° im Wasserbad, anschließend 8 bis 12 Std. (über Nacht) bei +4° im Kühlschrank belassen, bei 3500 Upm zentrifugiert und der Überstand von neuem mit Antigen versetzt bis zur Erschöpfung des Immunsereums, d. h. bis kein Präzipitat mehr abgesetzt war. Begonnen wurde im allgemeinen mit dem Zusatz von 0,03 ml Antigens auf 5,0 ml Antiserum.

Bereinigt wurden jeweils:

- Antiserum gegen Normalgewebe mit normalem Humanserum,
- Antiserum gegen Normalgewebe mit Tumorphomogenat,
- Antiserum gegen Tumorphomogenat mit normalem Humanserum,
- Antiserum gegen Tumorphomogenat mit Normalgewebe.

2.1.2.4 Ergebnisse

2.1.2.4.1 Befunde aus den Sensibilisierungsserien an Kaninchen

Aufgrund der Serumkontrollen von Kaninchen, die in regelmäßigen Abständen im Verlaufe verschiedener Sensibilisierungsserien vorgenommen wurden, konnte festgestellt werden, daß bei den mit Tumorextrakt behan-

delten Tieren (K_{TU}), ungeachtet der Herkunft des Tumorgewebes, spezifische Antikörper zeitlich früher und außerdem in quantitativ höherem Ausmaß auftraten als bei den Kaninchen, welche mit normalen Gewebshomogenaten sensibilisiert wurden (K_N). Vier Tiere von den mit Tumorphomogenaten behandelten Kaninchen gingen 30 Tage nach Beendigung der Sensibilisierungsserie unter zunehmender Kachexie zugrunde. Die mit normalen Antigenlösungen behandelten Kaninchen überlebten sämtlich.

2.1.2.4.2 Befunde an den *menschlichen* Normalgewebs- und Tumorphomogenat-Paaren [Abb. 7, 8, 9, 10].

Die gewonnenen Einzelbefunde der verschiedenen menschlichen Organ- und Tumorextrakte können summarisch wie folgt dargestellt werden:

Normalgewebe zeigten, wie dies sowohl mit der OUCHTERLONY-Technik als auch mit der Immunelektrophorese demonstriert werden konnte, mit dem jeweils spezifischen Antiorganserum eine Reihe, d.h. bis zu 12 verschiedener Proteinsysteme, die sich, verglichen mit einem Serum, vom Präalbuminbereich bis über die Position der γ -Globuline hinaus erstreckten. Es ergab sich aber auch eine Vielzahl von Präzipitationssystemen (bis zu 14) mit einem Antihumanserum (Antiserum gegen menschliche Serumproteine). Schließlich traten ebenso positive Präzipitatbildungen bei Verwendung eines Antitumorserums auf, hier allerdings in geringerem Ausmaß (bis zu 6 Linien). Auch die Tumorphomogenate zeigten sowohl mit ihrem spezifischen Anti-Tumorserum als auch mit Anti-Normalgewebsserum und auch mit Anti-Humanserum eine Reihe von Präzipitationssystemen, die untereinander allerdings merkliche Unterschiede in ihrer Proteinkonstellation aufwiesen.

Bei Vergleich der Normal- mit den Tumorphomogenaten konnte festgestellt werden, daß Normalgewebe im allgemeinen eine größere Anzahl von Proteinsystemen vorzuweisen hatten als Tumorgewebe, und daß zahlreiche Kreuzreaktionen zwischen den einzelnen Normal- und Tumorproteinen bestehen. Es würde zu sehr ins Spezielle gehen, wollte man auf die einzelnen Befunde und Phänomene jeweils eingehen. Die Ergebnisse beweisen insgesamt, daß zwar jedes Normalgewebe eine eigene Proteinkomposition und -Konstellation besitzt, daß aber die einzelnen Systeme innerhalb einer Spezies immunologisch durchweg Verwandtschafts-, wenn nicht Identitätsreaktionen zeigen [Abb. 7, 8, 9].

Selbst die Proteine entsprechender Tumoren, die sich in derselben Spezies entwickelt haben, verhielten sich immunologisch weitgehend wie Normalproteine.

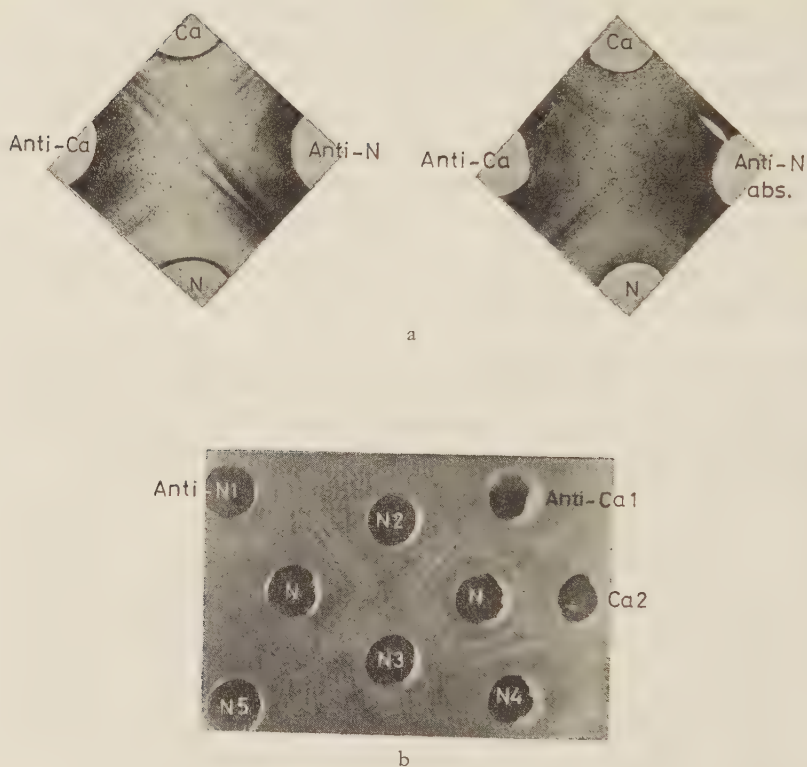


Abb. 7 Einzelbeispiele aus den Befunden mit zweidimensionaler Immun-Doppel-
a — b diffusions-technik.

a) Befunde der vergleichenden Untersuchungen mit Leberhomogenaten eines normalen und eines carcinomatösen Organs unter Verwendung spezifischer Anti-Homogenatseren.

b) Vergleichende Analysen unter Verwendung jeweils eines identischen Normal-Homogenats (hier Leber) (N) und verschiedener Antiseren gegen Normalgewebe sowie verschiedener Antiseren gegen maligne entartetes Gewebe.

Ca = Carcinomgewebe (hier Leber-Carcinom)

N = Normalgewebe (hier Leber-Homogenat)

Anti-Ca = Anti-Carcinom-Serum (hier Anti-Leber-Carcinom-Serum)

Anti-N = Anti-Normalgewebs-Serum (hier Anti-Leberhomogenat-Serum)

Anti-Nabs. = Anti-Leber-Serum mit Leber-Carcinom absorbiert

Anti-N 1 = Anti-Leber-Serum

Anti-N 2 = Anti-Nieren-Serum

Anti-N 3 = Anti-Colon-Serum

Anti-N 4 = Anti-Mamma-Serum

Anti-N 5 = Anti-Magenschleimhaut-Serum

Anti-Ca 1 = Anti-Leber-Carcinom-Serum

Anti-Ca 2 = Anti-Colon-Carcinom-Serum

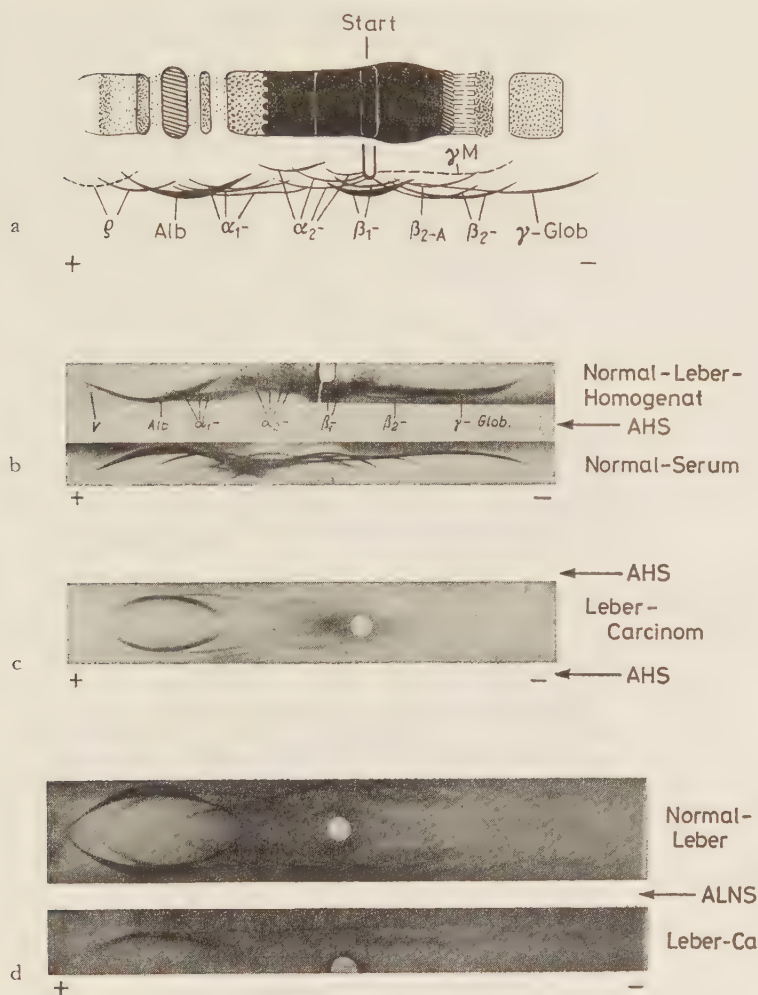


Abb. 8 Einzelbeispiele aus den Befunden der immunoelektrophoretischen Analysen von a — d normalem und carcinomatös verändertem Lebergewebe.

- Halbschematische Darstellung eines Normalbefundes der einfachen Agarelektrophorese und der Immunelektrophorese menschlichen Leberhomogenats.
- Gegenüberstellung von normalem Leberhomogenat und Serum eines Gesunden unter Verwendung eines Anti-Humanserums (AHS).
- Immunelektrophorese eines Lebercarcinom-Homogenats unter Verwendung eines Anti-Humanserums (AHS).
- Gegenüberstellung der immunoelektrophoretischen Befunde eines Normalleber-Homogenats und eines Lebercarcinom-Homogenats unter Verwendung eines spezifischen Antiserums gegen Normalleber (ALNS).

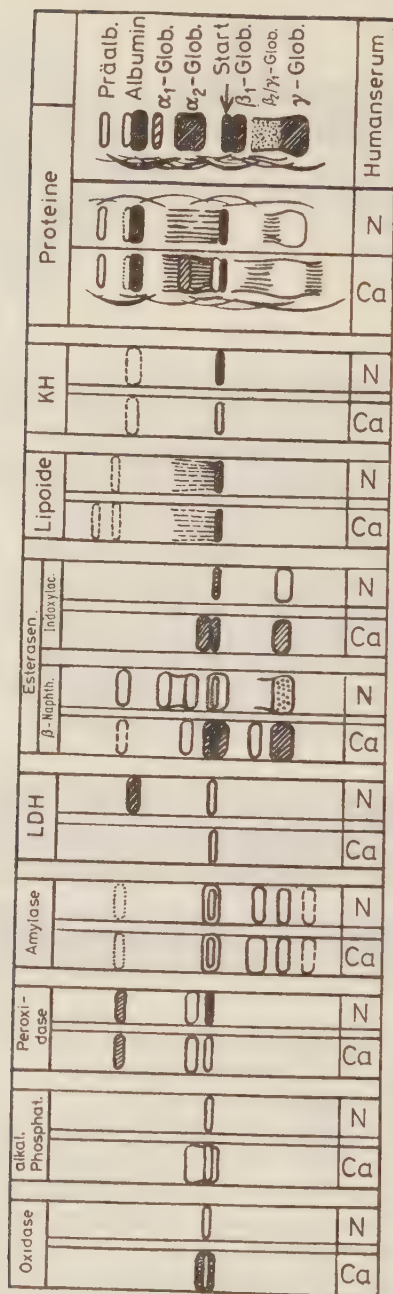


Abb. 9 Halbschematische Darstellung der agarelektrophoretischen, biochemischen sowie immunoelektrophoretischen Befunde von normalem Mammagewebe und dem Homogenat eines Mamma-Carcinoms.

Die Absorptionsversuche, die vor allem zur Aufklärung tumorspezifischer Kriterien vorgenommen wurden, haben ergeben, daß in den meisten hier untersuchten Fällen keine tumorspezifischen Proteinsysteme stehen bleiben. In nur zwei Beispielen konnten mit dem bereinigten Anti-Tumors Serum jeweils eine Eiweißkomponente als tumorspezifisch aufgezeigt werden. Die Komponenten zeigten jedoch Unterschiede hinsichtlich ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit. Es handelte sich in je einem Fall um ein Mamma-Carcinom sowie um ein Hypernephrom, bei welchen ein schnell diffundierendes α_2 -Globulin als tumorspezifisch angesehen werden konnte [Abb. 10], im anderen Falle um ein Colon-Carcinom, bei welchem ein Protein vom Typ eines γ_1 -Globulins isoliert dargestellt werden konnte.

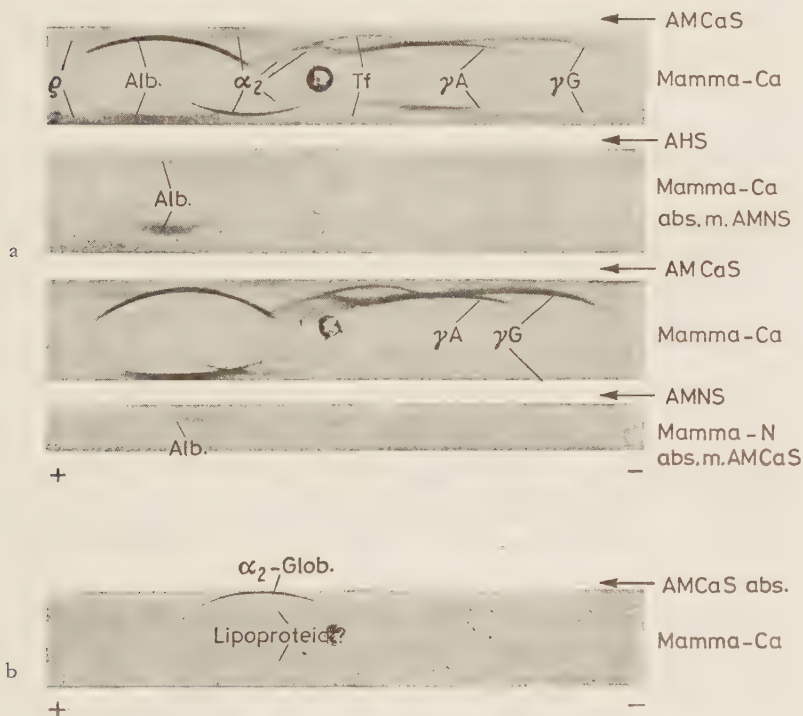


Abb. 10 Immunelektrophoretische Befunde an den Homogenaten normalen Mammagewebes und eines Mamma-Carcinoms.

- a — b
- a) Befunde der Analysen unter Verwendung von Anti-Mamma-Carcinom-Serum (AMCaS), Anti-Humanserum (AHS) sowie Antiserum gegen Mamma-Normalgewebe (AMNS).
- b) Befund unter Verwendung eines mit normalem Mammagewebs-Homogenat absorbierten Anti-Mamma-Carcinom-Serums (AMCaS abs.).

2.1.2.4.3 Befunde an den Homogenaten der normalen Skelettmuskulatur der Ratte und entsprechender, rattentransplantabler maligner Tumoren (YOSHIDA-Sarkom und WALKER-Carcinom).

Skelettmuskulatur der Ratte zeigte bei Diffusion gegen ein spezifisches Anti-Rattenmuskelserum bis zu 9 verschiedene Präzipitationssysteme, gegen Anti-Rattenserum ebenfalls 9, gegen Anti-Tumorserum bis zu 8 differenzierbare Proteinsysteme. Das Anti-YOSHIDA-Serum zeigte dabei im Vergleich zu Anti-WALKER-Serum kaum Unterschiede.

Gegen die beiden jeweils gepoolten Tumorphomogenate von YOSHIDA- und WALKER-Tumoren waren folgende Befunde zu erheben⁷:

Mit spezifischem Anti-Tumorserum konnten insgesamt bis zu 10, in zwei Analysensätzen sogar 11 Präzipitationssysteme aufgezeigt werden. Desgleichen kamen mit einem Anti-Rattenserum bis zu 10 Proteinfractionen zur Darstellung. Schließlich waren auch mit Anti-Serum gegen normale Ratten-Skelettmuskulatur bis zu 9 (10) Präzipitationslinien sichtbar zu machen. Die Präzipitationsmuster, die unter der Diffusion der verschiedenen erwähnten Antiseren auftraten, zeigten untereinander merkliche Unterschiede.

Bei entsprechender Versuchsanordnung konnte im OUCHTERLONY-Schalentest gezeigt werden, daß die einzelnen Proteinsysteme von Normal- und Tumorgewebe immunologische Kriterien der Identität, zumindest der Teilidentität aufweisen.

In den Versuchen mit absorbierten Antiseren waren hier in keinem Falle organ- oder tumorspezifische Proteinsysteme stehen geblieben.

Nachdem gezeigt werden konnte, daß – aufgrund der *Homogenatanalysen* – menschlicher Normal- und Tumorgewebe ebenso wie transplantabler Tumoren und entsprechender unveränderter Organe der Ratte, tumorspezifische Antigeneigenschaften bzw. immunologisch definierbare Unterscheidungsmerkmale eines Tumorgewebes gegenüber Normalgeweben *in nur wenigen Beispielen nachweisbar waren*, sollte nachfolgend in verschiedenen tierexperimentellen Versuchsreihen die Frage einer antigenen Wirksamkeit transplantabler Tumoren angegangen und geprüft werden.

⁷ Die Befunde werden wegen der großen Ähnlichkeit an einem Beispiel, dem WALKER-Carcinom, abgehandelt.

2.2 Tierexperimentelle Untersuchungen zur Aufklärung antigener Tumoreigenschaften (Immunserologische, elektrophoretische, immunelektrophoretische und biochemische Analysen)

Das Tierexperiment wurde deshalb gewählt, weil hier die Möglichkeit gegeben ist, mit bekannten Voraussetzungen (Tierspezies, Alter und Geschlecht der Tiere, bekannte Serumkonstellation) sowie mit definierten Tumoren (YOSHIDA-Sarkom sowie WALKER-Carcinom) zu arbeiten und eine lückenlose Beobachtung mit umfangreichen, regelmäßigen Kontrolluntersuchungen vorzunehmen. Als Versuchstiere wurden Ratten verschiedener Stämme bezogen⁸, als rattentransplantabel Tumoren YOSHIDA-Sarkom und WALKER-Carcinom⁹ gewählt.

An Untersuchungen wurden folgende vorgenommen:

Antigen-Nachweis im Serum tumortragender Ratten durch Serum-Analysen.

Es wird dabei an einen direkten Nachweis von Tumorproteinen oder spezifischen Fermentsystemen bei Tumorzerfall oder bei erhöhter Permeabilität von Tumorzellen sowie an indirekte Indikatorfaktoren, etwa eine Dysproteinaemie, gedacht.

Antigenitätsbeweis durch den Nachweis spezifischer zirkulierender Antikörper wie Agglutinine, Präzipitine u. a. m.

Nachweis spezifischer Gewebsantigene mit der Immunfluoreszenzmethode unter Verwendung des (antikörperhaltigen) Serums eines tumortragenden Tieres.

Das Tierexperiment hat freilich den Nachteil, daß die erzielten Befunde erfahrungsgemäß nicht ohne weiteres auf die Humanpathologie übertragen werden können. Es gewährt aber ohne Zweifel einen Einblick in prinzipiell ablaufende biologische und pathologische Vorgänge, die sich, je nach Wahl der Versuchsanordnung, wenigstens teilweise in der Humanpathologie dennoch widerspiegeln.

⁸ Wistar-Ratten, Hannover; Albinoratten, Köln.

⁹ S. S. 10 unten!

2.2.1 Übersicht über die verschiedenen Versuchsreihen

Es wurden für die nachfolgend aufgeführten Versuchsreihen insgesamt 120 Albinoratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 230 g eingesetzt. Die Versuchsanordnung im einzelnen wird in Abschnitt III vor den Ergebnissen jeweils kurz erläutert, so daß auf diese hier nicht näher eingegangen zu werden braucht.

Zu den Versuchen ist generell zu sagen, daß in allen Fällen vor der angegebenen Behandlung oder Untersuchung jeweils Ausgangswerte festgehalten wurden, daß entsprechende Kontrollgruppen eingesetzt, und daß bei Vergleichen jeweils adaequate Bedingungen zugrundegelegt wurden.

2.2.1.1 *Trägartiere*

Beobachtung von Ratten, welchen lediglich YOSHIDA-Sarkom bzw. WALKER-Carcinom transplantiert wurde. Beobachtungszeit: drei Wochen.

Untersuchung der Serumeiweißkörper und der Serumfermente (Papier- und Agarelektrophorese) sowie immunologische Reaktionen zum Nachweis zirkulierender Antikörper (agglutinierende, präzipitierende Antikörper) bzw. spezifischer Tumorantigene.

2.2.1.2 *Sensibilisierung mit dem Homogenat der transplantablen Tumoren*

Aktive Sensibilisierung unvorbehandelter Ratten mit dem Homogenat eines rattentransplantablen Tumors (zwei Gruppen: eine mit YOSHIDA-Sarkom, die andere mit WALKER-Carcinom). Danach Übertragung der Zellen der entsprechenden Tumoren. Beobachtung über einen Zeitraum von durchschnittlich sechs Wochen.

Untersuchung der Serumeiweißkörper (Papierelektrophorese und Immunelektrophorese), Antikörper-Nachweisreaktionen (wie unter 2.1.2.3 pp.) sowie Immunfluoreszenz-Untersuchungen am Schnitt der Tumoren.

2.2.1.3 *Passive Übertragung eines spezifischen Anti-Tumorserums vor Transplantation*

Ratten wurden mit einem Anti-Tumorserum vom Kaninchen vorbehandelt, bevor die Zellen des entsprechenden Tumors (zwei Gruppen wie unter 2.2.1.2) transplantiert wurden.

Untersuchungen wie unter (2.2.1.2).

2.2.1.4 *Passive Übertragung eines spezifischen Anti-DNS¹⁰-Serums vor Transplantation*

Ratten wurden mit einem Anti-DNS-Serum vom Kaninchen vorbehandelt, ehe die Zellen von YOSHIDA-Sarkom bzw. WALKER-Carcinom (zwei Gruppen) transplantiert wurden.

Untersuchungen wie unter (2.2.1.2).

2.2.1.5 *Austauschtransplantation inoculierter Tumoren unter Paaren ein und derselben Zucht*

Ratten erhielten an zwei verschiedenen Stellen Tumorzellen inoculiert. Einer der herangewachsenen Tumoren wurde exstirpiert und dessen Zellen einem anderen Tier der gleichen Zucht transplantiert. Umgekehrt wurde von letzterem ebenfalls ein Tumor in toto operiert und dessen Zellen der ersten Ratte transplantiert. Es wurde somit jeweils ein Rattenpaar mit gegenseitig ausgetauschtem Tumorzellmaterial beobachtet.

Untersucht wurden die Seren auf zirkulierende Antikörper (wie unter 2.2, S. 39).

2.2.1.6 *Austauschtransplantation inoculierter Tumoren unter Rattenpaaren verschiedener Herkunft*

Die Versuchsanordnung entspricht der unter 2.2.1.5 angegebenen, mit dem Unterschied, daß der Tumorzellaustausch unter je zwei Ratten verschiedener Zucht erfolgte.

Untersucht wurden auch hier die Seren der behandelten Tiere auf zirkulierende Antikörper (wie unter 2.2, S. 39).

2.2.2 **Methodik**

2.2.2.1 *Transplantationstechnik*

Von einem tumortragenden Tier wurde nach Tötung im Chloroformrausch das maligne Transplantat in toto entnommen und sorgfältig von peritumoralem- und tumorfremdem Bindegewebe befreit.

¹⁰ DNS = Desoxyribonukleinsäure.

Nekrotisierte Tumoren wurden nicht verwendet. Die exstirpierten malignen Gewebe wurden kurzfristig unter fließendem Wasser gewässert, zerkleinert und sodann durch die Embryonenpresse getrieben. Das so gewonnene Zellsubstrat wurde im Verhältnis 1:4 mit physiol. NaCl-Lösung verdünnt und unter Wahrung steriler Kautelen in die Nackenmuskulatur bzw. unter das Sarkolemm derselben injiziert. Im allgemeinen wurden 1,0 ml pro Inoculationsstelle und Tier appliziert (2×10^6 Zellen pro ml).

2.2.2.2 Sensibilisierung mit dem Homogenat transplantabler Tumoren

Bei der Aufbereitung des Tumorgewebes wurde wie auf S. 10 und 11 vorgegangen. Die Homogenate wurden nicht länger als drei Tage bei $+4^\circ$ aufbewahrt, im übrigen aber jeweils frisch hergestellt und unverzüglich für die Injektionen verwendet.

Der Sensibilisierungsmodus bestand darin, daß die Ratten dieser Gruppe jeden zweiten Tag 0,5 ml des Tumorphomogenats pro Tier und Injektion intraperitoneal appliziert bekamen. Insgesamt waren es 12 Einzelinjektionen über einen Zeitraum von 23 Tagen. 18 Tage nach Behandlungsbeginn wurde jedem Tier Zellmaterial von dem jeweils entsprechenden Tumor (wiederum zwei Gruppen, eine mit YOSHIDA-Sarkom, die andere mit WALKER-Carcinom) transplantiert.

2.2.2.3 Herstellung weiterer Antiseren

2.2.2.3.1 Anti-Tumorseren

Die Aufbereitung des Tumorgewebes zu einem injizierbaren Homogenat erfolgte nach den Angaben auf S. 10 (Aufbereitung von Geweben).

Die Sensibilisierung wurde an Kaninchen vorgenommen. Der Behandlungsplan entsprach dem auf S. 29 angegebenen Modus.

2.2.2.3.2 Anti-DNS-Serum

0,4 g DNS wurden in einer Mischung aus 25,0 ml NaCl physiol. und 14,0 ml 1/n NaOH gelöst.

Mit dieser Lösung wurden drei Kaninchen folgendermaßen behandelt: Eine erste Injektion erfolgte intramuskulär mit einer Emulsion aus 2,0 ml obiger DNS-Lösung und 4,0 ml FREUNDschem Adjuvans. Danach wurden fünfmal aufeinanderfolgend 0,5 ml der unvermischten DNS-Lösung pro

Tier und Injektion subkutan appliziert. Nach 21 Tagen seit Behandlungsbeginn wurde eine zweite Injektionsserie angeschlossen. Sie bestand darin, daß jeden zweiten Tag 0,2 ml der DNS-Lösung pro Tier und Injektion subkutan appliziert wurden, dies insgesamt siebenmal.

Erst 5 Wochen nach Sensibilisierungsbeginn war aufgrund der laufend kontrollierten Kaninchenseren die beste Antikörper-Ausbeute festzustellen. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Immunseren abgenommen und für die entsprechenden Rattenversuche verwendet.

2.2.2.4 *Tumorexstirpation (Operationstechnik)*

Die Operation erfolgte in Äthernarkose. Nach Fixieren der Versuchstiere auf einer Metallplatte (durch Schnurbefestigung an den vier Extremitäten) wurde im Bereich eines der beiden Tumoren ein Hautschnitt in Anpassung an die Ausdehnung des Tumors geführt und anschließend stumpf weiterpräpariert. Im allgemeinen ließen sich die Tumoren ohne weiteres aus der Nackenmuskulatur lösen und nach Unterbinden vereinzelt nachweisbarer größerer Gefäße in toto exstirpieren. Es folgten Muskelnähte, sodann die Hautnaht.

Antibiotika, die anfangs ins Operationsfeld bzw. i.m. post operationem appliziert wurden, erwiesen sich als nicht erforderlich, wie dies an einem späteren Operationsgut gezeigt werden konnte.

2.2.2.5 *Antikörper-Nachweismethoden*

2.2.2.5.1 Passive Haemagglutinationsreaktion nach BOYDEN

Methodische Angaben siehe S. 30.

Die Methode wurde eingesetzt zum Nachweis agglutinierender Antikörper gegen Tumorproteine in den verschiedenen Rattenseren sowie in den Kaninchenversuchen bei der Gewinnung spezifischer Antiseren gegen Tumorphomogenate und DNS-Lösung. Sie wurde außerdem angewandt zum Nachweis von Kaninchenserum-Antikörpern in den Rattenversuchsreihen mit passiver Übertragung von Immunseren des Kaninchens.

2.2.2.5.2 Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY

Methodisches hierzu wurde bereits auf Seite 30 und 31 gebracht.

Untersucht wurden mit dieser Technik sämtliche Tierseren auf Präzipitine, je nach Fragestellung und Versuchsanordnung.

2.2.2.5.3 Immunfluoreszenz-Technik nach COONS [49, 50, 172]¹¹

Herstellung der Gewebeschnitte:

Scheibchen von ca. 1 cm² und einer Dicke von 4 mm oder Würfel von 5 mm³ der zu untersuchenden Gewebe, hier Tumorgewebe, wurden mit Kohensäureschnee durchgefroren und in der Kühltruhe¹² bei -20° bis zur Aufbereitung des entsprechenden Serums aufbewahrt.

Fluoreszeierung der Seren:

Von den für die gewebliche Antigen-Antikörper-Reaktion vorgesehenen Seren wurde zunächst die γ -Globulin-Fraktion durch Ammonsulfatfällung abgetrennt und für die Fluoreszenzmarkierung weiter aufbereitet. Nach Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes (Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (260)) wurde die γ -Globulin-Fraktion im Verhältnis 0,1 mg/mg EW mit Fluoreszeinisothiozyanat versetzt. Durch Dialyse gegen gepufferte physiol. NaCl-Lösung sowie durch nachfolgende Trennung über die DEAE-Zellulosesäule erfolgte eine weitgehende Reinigung des markierten γ -Globulin-Präparates. Schließlich Einengung durch Druckdialyse mit Stickstoff.

Inkubieren der Gewebeschnitte:

Die Inkubierung der Gewebeschnitte (aus den Gefrierpräparaten) erfolgte im Brutschrank bei 37° über 30 Min. mit dem oben beschriebenen fluoreszenzmarkierten γ -Globulin.

Auswertung unverzüglich unter dem Fluoreszenzmikroskop¹³ unter Einbeziehung eines unbehandelten Vergleichspräparates zur Beurteilung von Spontanfluoreszenz-Phänomenen.

2.2.2.6 Sonstige Serumanalysen

2.2.2.6.1 Agarelektrophorese

in Kombination mit Farbreaktionen und Fermentnachweismethoden.

Methodische Einzelheiten hierzu finden sich auf S. 11 und 12.

Diese Untersuchungen wurden vor allem in der Versuchsgruppe 1 vorgenommen.

¹¹ Die Untersuchungen verdanke ich Herrn Priv.-Doz. Dr. H. WARNATZ.

¹² BBC-Fabrikat.

¹³ Fa. LEITZ.

2.2.2.6.2 Papierelektrophorese

Zur Methodik siehe S. 32.

Sie wurde in den Versuchsgruppen 2.2.1. -1, -2, -3 und -4 mit angewandt.

2.2.2.6.3 Statistische Auswertung papierelektrophoretischer Befunde

Die statistische Auswertung der papierelektrophoretischen Befunde erfolgte nach den Grundlagen von LINDER [160].

2.2.2.6.4 Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese wurde zur besseren Differenzierung von Dysproteinämien und zum indirekten Antigenitätsbeweis in all den Fällen mit angewandt, in welchen auch eine Papierelektrophorese vorgenommen wurde.

2.2.2.6.5 Nachweis von Tumorantigenen im peripheren Blut

durch Agglutinations- und Präzipitationsreaktionen des Serums tumortragender Ratten mit einem Anti-Tumorserum, welches vorher mit normalem Rattenserum weitgehend bereinigt worden war.

2.2.3 Ergebnisse

2.2.3.1 *Ergebnisse der Vorversuche* (Sensibilisierung von Kaninchen)

2.2.3.1.1 Sensibilisierung mit Tumorphomogenat

Verhalten der Serumweißkörper. Unter der Sensibilisierung mit Tumorphomogenat kam es bei den behandelten Kaninchen zu einer tiefgreifenden Dysproteinämie mit kontinuierlichem Absinken der Albumine und relativer Zunahme praktisch aller Globulinfraktionen, anfangs vorwiegend der α - und β_1 -Globuline, bei späteren Kontrollen vor allem auch der γ -Globuline.

Die passive Haemagglutinationsreaktion erwies sich bei einem der sensibilisierten Kaninchen mit einem Titer von 1:64 bereits bei zweiter Kontrolle, d. h. am 18. Tage nach Behandlungsbeginn, als positiv; bei vierter und letzter Kontrolle, d. h. 5 Wochen nach Sensibilisierungsbeginn waren in den Seren beider Kaninchen jeweils Titerstufen von 1:1024 ablesbar.

Die *zweidimensionale Immundiffusion im Agargel* ergab ab zweiter Kontrolle mit den Seren beider Kaninchen regelmäßig deutliche Präzipitationsreaktionen. Die Zahl der darstellbaren Systeme variierte zwischen zwei – bei der 2. Kontrolle – und sieben Linien – bei der vierten Kontrolle.

2.2.3.1.2 Sensibilisierung mit DNS-Lösung

Die *papierelektrophoretisch* ermittelten Serumeiweißkomponenten der behandelten drei Kaninchen zeigten eine deutliche Dysproteinämie, die zunächst in einer Hypalbuminämie mit vorwiegend relativer Anreicherung von α_1 -Globulinen und β_1 -Globulinen, später insbesondere der γ -Globulinfraktion zum Ausdruck kam. Die Albumine erholten sich trotz der kontinuierlichen Zunahme des γ -Globulins zusehends.

Die *passive Haemagglutinationsreaktion* ergab Titer bis zu maximal 1:32 bei dritter Kontrolle, d.h. nach über 7 Wochen seit Sensibilisierungsbeginn; sie gingen bis zur 4. Kontrolle bereits wieder deutlich zurück.

Im *OUCHTERLONY-Test* fielen ab der zweiten Kontrolle sogenannte Hemmzonen auf, die bis zur letzten Kontrolle in gleicher Weise zu beobachten waren. Präzipitate konnten in keiner der vorgenommenen Analysen nachgewiesen werden.

2.2.3.2 Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe I (Trägartiere)

2.2.3.2.1 Beobachtung an den Transplantaten

In der Gruppe der völlig unvorbehandelten Ratten wurde nach Übertragung der Tumorzellen nach durchschnittlich fünf Tagen ein Angehen der Transplantate, d.h. eine etwa linsen- bis erbsgroße Tumorentwicklung wahrgenommen. Das weitere Wachstum dieser malignen Geschwülste erfolgte von nun an zusehends. Nach acht bis elf Tagen kam es entweder zu zentraler Nekrose mit Ulzeration oder bereits zum Exitus des tumortragenden Tieres.

Diese Beobachtungen gelten ausnahmslos sowohl für die mit YOSHIDA-Sarkom transplantierten Ratten als auch für die mit WALKER-Carcinom inokulierten Tiere.

2.2.3.2.2 Papierelektrophoretische Befunde der Serumproteine

Die papierelektrophoretischen Befunde ergaben nach einer Beobachtungsdauer von 9 Tagen eine tiefgreifende Dysproteinämie, die in einer erheb-

lichen Hypalbuminämie mit relativer, starker Vermehrung vor allem der α_1 -, aber auch der α_2/β - und auch der β_1 -Globulin-Fractionen zum Ausdruck kam. An der relativen Globulinvermehrung waren die α_2 - wie auch

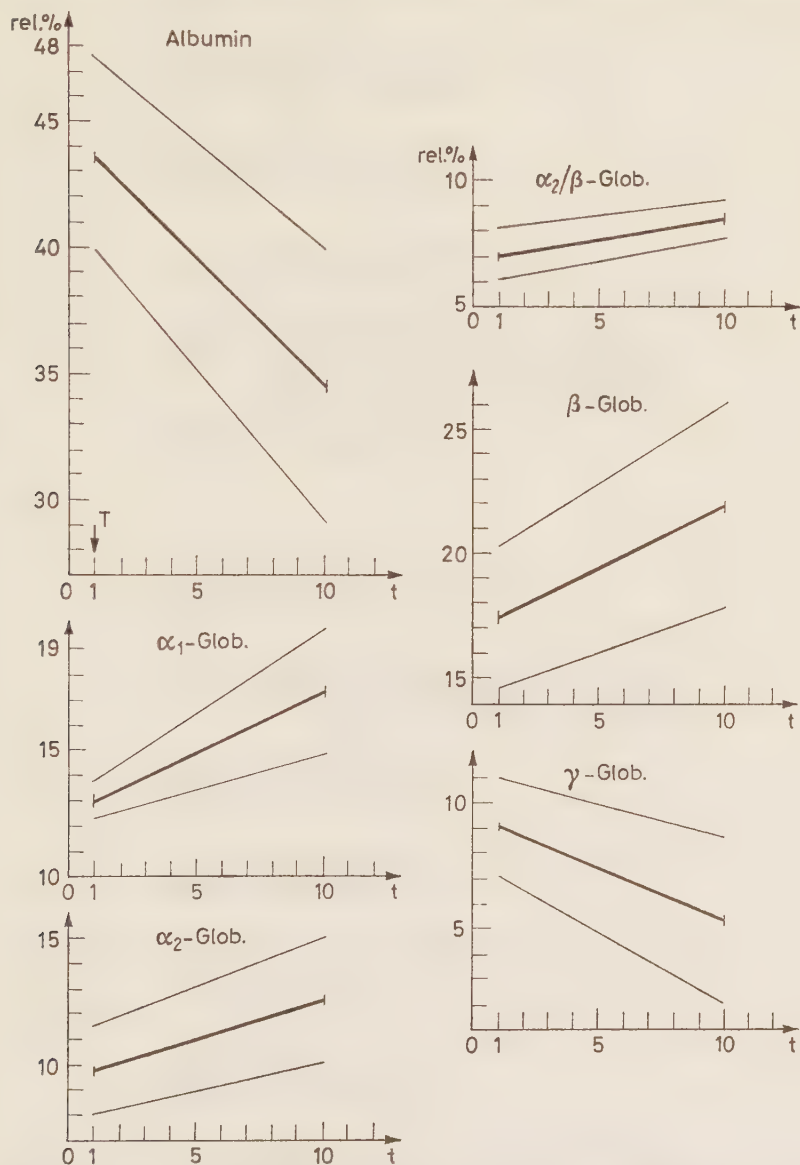


Abb. 11 Graphische Darstellung des Verhaltens der Serumproteinfractionen (Mittelwerte und $\sigma \pm$ der rel.%) tumortragender Ratten: Hauptversuchsgruppe I.

die γ -Globuline weniger beteiligt (Abb. 11). In der Gruppe der mit WALKER-Carcinom transplantierten Ratten kam es unter Berücksichtigung des Gesamteiweißes, d.h. der absoluten Prozente, zu einer auffallenden Hypo-

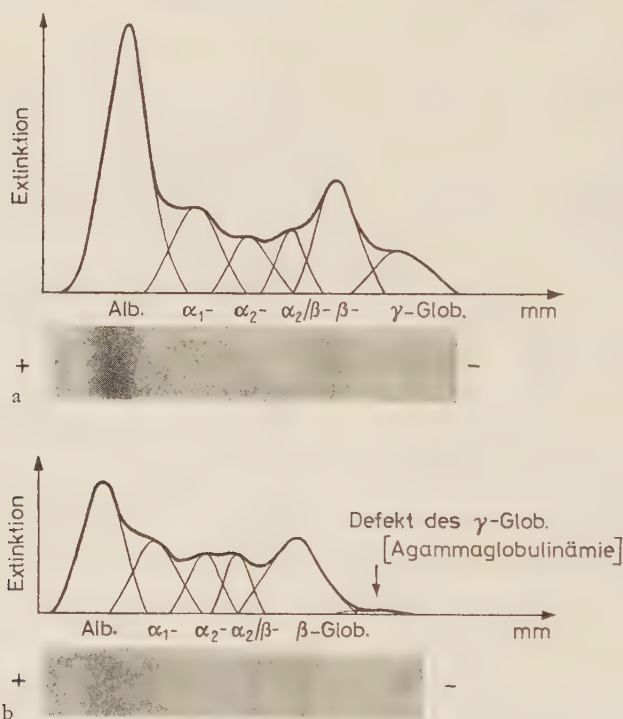


Abb. 12 Streifen und Diagramme der Serumprotein-Elektrophorese-Befunde einer Ratte
a — b aus Hauptversuchsgruppe I:

a) Ausgangswert,

b) Kontrollwert nach 9 Tagen nach Tumorinokulation.

gammaglobulinämie. In Einzelfällen wurde sogar eine Agammaglobulinämie beobachtet (Abb. 12).

Die dargelegten Veränderungen in der Relation der Serumproteine konnten zumeist statistisch gesichert werden.

2.2.3.2.3 Agarelektrophoretische Befunde

(unter Einbeziehung verschiedener Farbreaktionen und Fermentnachweisreaktionen: Abb. 13a bis c).

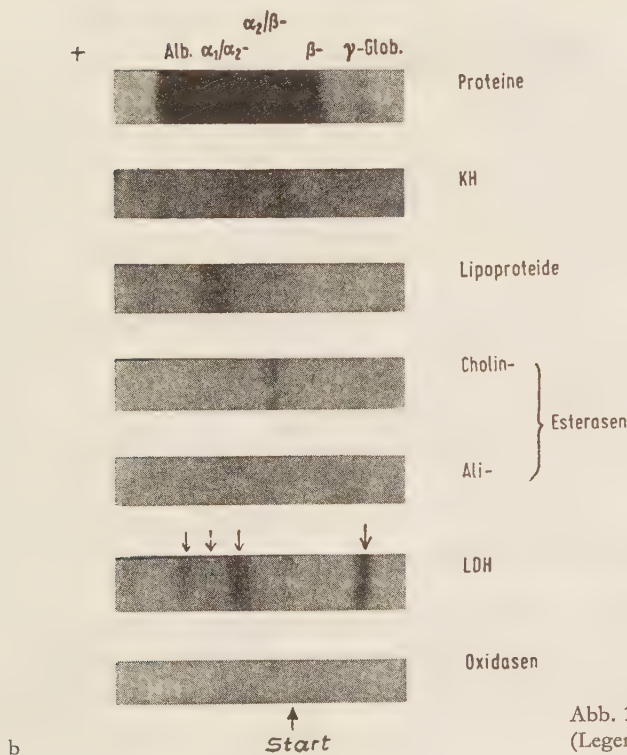
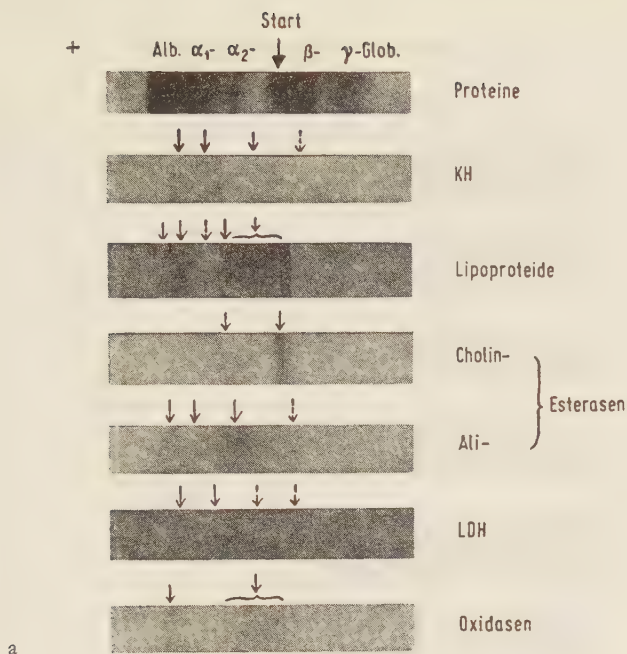


Abb. 13 a—b
(Legende umseitig)

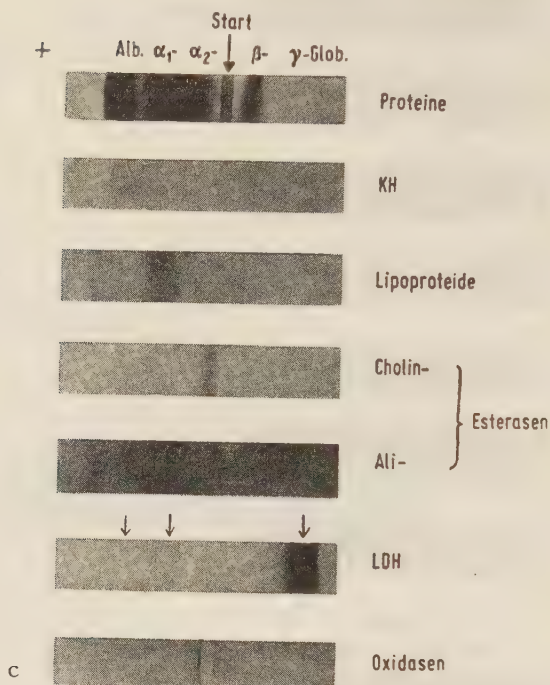


Abb. 13 Agarelektrophoretische Befunde mit kombinierten biochemischen Reaktionen zur näheren Charakterisierung einzelner Serumproteine.

- a) Befunde vor Tumordinokulation,
 b) Befunde einer YOSHIDA-Sarkom-tragenden Ratte,
 c) Befunde einer WALKER-Carcinom-tragenden Ratte.
 Man beachte vor allem das Verhalten der LDH-Isoenzyme!

Die agarelektrophoretisch differenzierten Serumeiweißkörper tumortragender Ratten ließen, im Vergleich zu den Befunden normaler Rattenserum, folgende Besonderheiten erkennen:

Unter den mit Amidoschwarz 10 B darstellbaren *Proteinen* fielen eine schwächere Anfärbbarkeit der Albuminfraktion und eine intensivere Färbung vor allem der α_1 -Globuline auf.

Bei Färbung mit SCHIFFSchem Reagens zur Darstellung von *Glykoproteiden* ergab sich eine intensive Farbreaktion im Bereich der α_1 -, α_2 - und β_1 -Proteine.

Außerdem fanden sich eine relative Vermehrung von *Lipoproteiden* sowie eine Anreicherung der *Esterasen*, und zwar sowohl der Cholinesterase als auch der Pseudoesterasen, ohne jeweilige qualitative Abwandlung der genannten Serumkomponenten.

Bei der *Lactatdehydrogenase* (*LDH*) fiel eine enorme Farbreaktion im Bereich einer breitbasigen, jedoch scharf begrenzten γ -Globulin-Fraktion auf, während im anodischen Trennbereich nur drei schwache Farbzonen differenziert werden konnten. Das Phänomen im γ -Globulin-Bereich konnte bei sämtlichen tumortragenden Tieren mit nur geringen quantitativen Unterschieden in beiden Gruppen, YOSHIDA- wie WALKER-Ratten, beobachtet werden. Zu bemerken ist, daß der Nachweis eines LDH-Isoenzym im γ -Globulin-Bereich der unbehandelten Ratte kein Äquivalent findet; zumindest sind die Konzentrationen einer eventuell dennoch vorhandenen Komponente so gering, daß ihr Nachweis mit vorliegender Technik nicht gelang.

Die *Peroxidasereaktion* ließ sich in den Seren tumortragender Ratten auffallend stark nachweisen. Qualitative Veränderungen wurden jedoch nicht beobachtet.

Oxidase- und *Amylaseaktivität* zeigten weder mit Bezug auf ihre typische Lokalisation im normalen Rattenserum noch mit Bezug auf ihr qualitatives Verhalten Abweichungen gegenüber einem Normalserum.

2.2.3.2.4 Immunelektrophoretische Befunde

Im Vergleich zu den Präzipitationssystemen eines normalen Rattenserums fiel zunächst eine insgesamt weniger intensive Darstellung der meisten Fraktionen und Subfraktionen auf; weiterhin waren einzelne schnell wandernde α -Globuline stärker auspräzipitiert als in einem Normalserum. Schließlich zeigte sich im Bereich der γ -Globuline häufig eine Aufsplitterung bzw. Spornbildung der γ G-Fraktion.

2.2.3.2.5 Passive Haemagglutinationsreaktion (Antikörper-Nachweis)

In beiden Gruppen der tumortragenden Versuchstiere konnten bei Verwendung von Tumorhomogenat als Antigen weder vor Transplantation noch am Ende der Beobachtungszeit positive Haemagglutinationsreaktionen nachgewiesen werden.

2.2.3.2.6 Immunpräzipitation im Agargel (Antikörper-Nachweis)

Bei zweidimensionaler Immunodiffusion der einzelnen Rattenserum gegen das Tumorhomogenat des transplantablen Tumors konnte in keiner der beiden Gruppen – YOSHIDA- und WALKER-Ratten – eine Präzipitatbildung beobachtet werden.

2.2.3.2.7 Antigen-(Tumorfaktor)-Nachweis

Bei Verwendung eines bereinigten Anti-Tumorserums vom Kaninchen konnte in insgesamt 6 Fällen bei letzter Kontrolle sowohl mit der Haemagglutinationsreaktion als auch mit der Präzipitationstechnik ein Befund erhoben werden. Es handelte sich dabei um vier Ratten der WALKER-Reihe und um zwei Tiere der mit YOSHIDA-Sarkom transplantierten Reihe.

2.2.3.2.8 Fluoreszenzoptische Ergebnisse

Nach Inkubation von Schnitten der transplantierten Tumoren mit dem fluoreszierten, gepoolten Rattenserum der Trägartiere konnte eine Fluoreszenz der gesamten Schnittfläche ohne Aufleuchten umschriebener Bezirke, etwa des Zytoplasmas oder des Nukleoplasmas der Tumorzellen, wahrgenommen werden.

2.2.3.3 *Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe II*

(Mit Tumorphomogenat behandelte und anschließend transplantierte Ratten)

2.2.3.3.1 Beobachtungen an den Versuchstieren

Das Angehen der transplantierten Zellen wurde durch die Behandlung mit Tumorphomogenat nicht beeinträchtigt, ebenso wenig das weitere Wachstum der Tumoren. Auch die Überlebenszeit der Tiere konnte im Vergleich zu den lediglich tumortragenden Ratten keineswegs nennenswert variiert werden; sie betrug hier zwischen 9 und 17 Tage nach Transplantation.

2.2.3.3.2 Verhalten der Serumeiweißkörper

Auftreten einer Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und starker, relativer Vermehrung der α_1 - und β_1 -Globuline. Uncharakteristisches Verhalten der γ -Globuline: teilweise geringer, relativer Anstieg, teilweise Absinken der Fraktion, im Mittel Nivellierung und somit indifferente Befunde gegenüber der Ausgangssituation (Abb. 14).

2.2.3.3.3 Immunoэлектроphoretisch

waren in dieser Gruppe praktisch die gleichen Befunde zu erheben wie in Versuchsgruppe I.

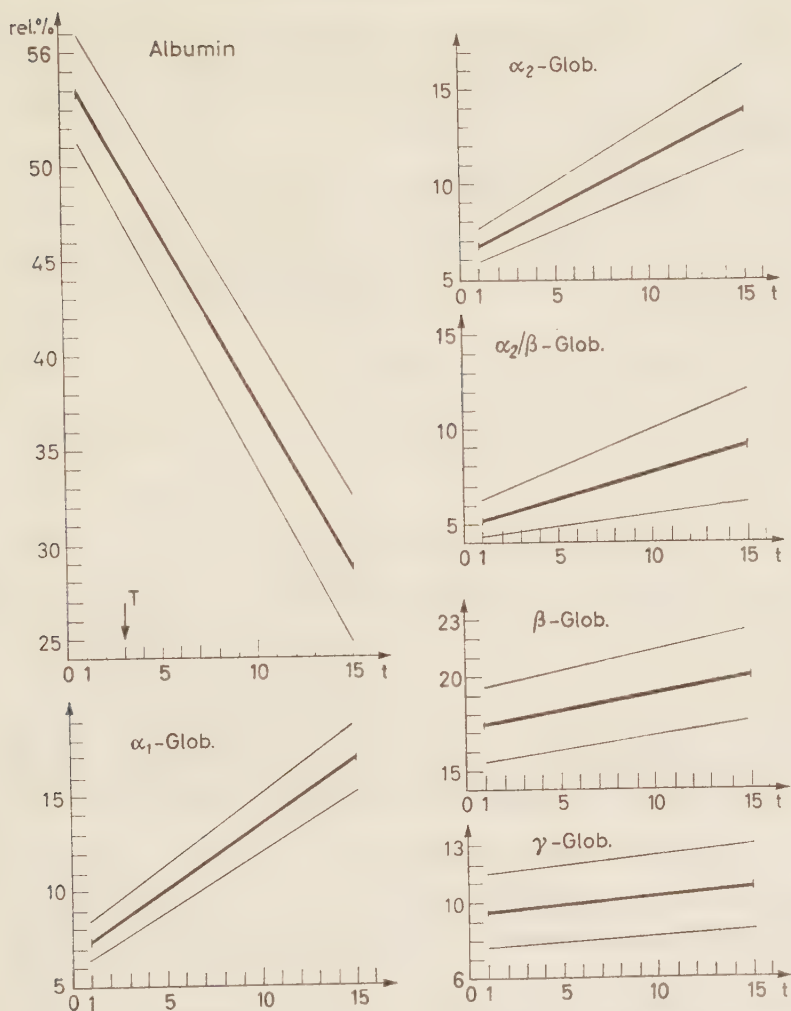


Abb. 14 Graphische Darstellung des Verhaltens der Serumproteinfractionen (Mittelwerte und $\sigma \pm$ der rel.%) der Hauptversuchsgruppe II.

2.2.3.3.4 Passive Haemagglutinationsreaktion

Sämtliche Einzelanalysen verliefen negativ oder ergaben allenfalls Titerstufen von 1:4 oder maximal 1:8.

2.2.3.3.5 Präzipitin-Nachweis

Die zweidimensionale Immundiffusion ergab in keinem Falle ein sicheres Präzipitat zwischen den untersuchten Seren der behandelten Tiere und dem

Homogenat des jeweils spezifischen rattentransplantablen Tumors. In vier Einzelfällen wurde bei den Ausgangswerten, d.h. zwischen den Seren der völlig unbehandelten Ratten und dem Tumorantigen jeweils ein schwaches Präzipitationsphänomen wahrgenommen.

2.2.3.3.6 Die immunfluoreszenzoptischen Befunde

bestanden wie in Gruppe I in einer schwachen, homogenen Fluoreszenz der einzelnen Schnitte ohne graduelle Intensitätsunterschiede.

2.2.3.4 *Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe III*

(Passive Übertragung eines spezifischen Anti-Tumorserums vor Transplantation)

2.2.3.4.1 Beobachtungen an den Versuchstieren

Durch die Behandlung mit einem spezifischen Anti-Tumorserum vom Kaninchen wurde das Angehen der Tumorzelltransplantate in keinem Falle verzögert oder gar verhindert, das Tumorstadium jedoch hintangehalten und die Überlebenszeit der Ratten um ein Drittel bis um das Doppelte verlängert. Bei drei Tieren der YOSHIDA-Reihe kam es zu einem deutlichen Rückgang des Tumors; sie überlebten 8 weitere Wochen. Bei späterer Sektion waren die Transplantate nur noch als flache Infiltrationen nachweisbar.

2.2.3.4.2 Serumproteine und Serumfermente

Die Papier- und agaroelektrophoretisch faßbaren *Serumeiweißveränderungen* bestanden wiederum in einer Dysproteinämie mit Hypalbuminämie, relativer α_1 -, α_2/β -, β_1 - und diesmal auch γ -Globulin-Vermehrung (Abb. 15). Die hier vorgenommenen, zusätzlichen agaroelektrophoretischen Analysen mit kombinierten Färbe- und Fermentnachweismethoden führten zu Befunden wie sie in Gruppe I bereits mitgeteilt wurden. Auffällig war auch hier wieder der Nachweis einer stark angereicherten LDH-Komponente im γ -Globulin-Bereich.

2.2.3.4.3 Immunelektrophoretisch

waren die in den vorherigen Gruppen beschriebenen Spaltungsphänomene der γ -Globuline nur in zwei Fällen nachweisbar; dagegen fiel hier häufig eine relativ breit auspräzipitierte γ G-Fraktion auf.

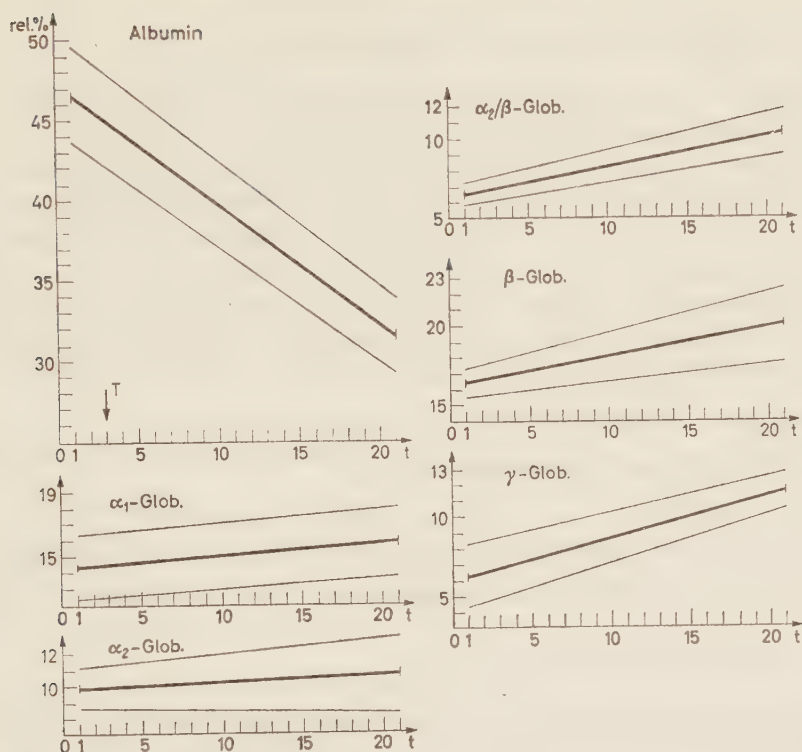


Abb. 15 Graphische Darstellung des Verhaltens der Serumproteinfraktionen (Mittelwerte und $\sigma \pm$ der rel. %) der Hauptversuchsgruppe III.

2.2.3.4.4 Passive Haemagglutinationsreaktion

Bei Verwendung des spezifischen Tumorantigens konnte wiederum in keinem Falle eine positive Haemagglutinationsreaktion erzielt werden. Dagegen waren bei Bindung des *Kaninchenserums* an die tannierte Erythrozyten in allen Ansätzen Titerwerte zwischen 1:256 und 1:1024 nachweisbar. Hier wurde bei jedem Versuchstier nur eine orientierende Untersuchung am Ende der Beobachtungszeit vorgenommen, so daß über das erste zeitliche Auftreten spezifischer Kaninchenserum-Antikörper keine Aussage gemacht werden kann.

2.2.3.4.5 Präzipitationsreaktion im Agargel

Auch hier konnten gegen *Tumorantigene* keine, gegen das *Trägerserum* der *Tumorantikörper* (Kaninchen), zumindest bei letzter Kontrolle, deutliche Präzipitationsreaktionen, d.h. bis zu vier Systeme aufgezeigt werden.

2.2.3.4.6 Die Immunfluoreszenzuntersuchungen

ergaben bei Inkubierung der Tumorschnitte mit dem jeweiligen *Serum der gleichartig tumortragenden Tiere* wiederum eine homogene, schwache Gewebsfluoreszenz. In Einzelfällen zeigte sich ein relativ deutlicheres Aufleuchten von Tumorzellkernen. Bei Inkubierung der Tumorschnitte mit dem verwendeten *Anti-Tumorserum* zeigte sich regelmäßig eine stärker hervortretende Fluoreszenz des Nukleoplasmas; in Einzelfällen darüber hinaus auch des Plasmasaums der Malignomzellen. Die mit *Kaninchen-Kontrollserum* versetzten Gefrierschnitte der Tumorpräparate zeigten keine oder eine nur schwache homogene Fluoreszenz des Gewebes.

2.2.3.5 Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe IV

(Passive Übertragung eines spezifischen Anti-DNS-Serums vor Transplantation)

2.2.3.5.1 Beobachtungen an den Tieren

Die mit Anti-DNS-Serum vom Kaninchen behandelten Ratten zeigten wie die Trägartiere mit Bezug auf das Angehen der transplantierten Tumorzellen keine Abweichungen, d.h. auch hier war bei allen Tieren am 5. Tag nach Zellübertragung Tumorstadium nachweisbar. Die Weiterentwicklung dieser Tumoren erfolgte jedoch im Vergleich zu den lediglich tumortragenden Tieren augenscheinlich retardiert. Etwa kirschgroße Tumoren, wie sie sonst bereits 7 bis 8 Tage nach Transplantation beobachtet wurden, konnten hier erst 12 Tage nach Inokulation gesehen werden. Bei zwei Tieren kam es zu einem Rückgang der Tumoren vom 5. Tag nach Transplantation an.

Die Überlebenszeit konnte im einzelnen bis zu 26 Tagen, durchschnittlich um ein Drittel gegenüber den lediglich tumortragenden Tieren verlängert werden.

2.2.3.5.2 Die Serumprotein- und Serumferment-Befunde,

d.h. die Ergebnisse der papier- und agarelektrophoretischen wie immunoelektrophoretischen Analysen entsprechen im wesentlichen denjenigen der Gruppe III.

2.2.3.5.3 Desgleichen verhielten sich die Befunde der *Antikörper-Nachweisreaktionen* wie diejenigen der Gruppe III:

Auch hier konnte weder mit Agglutinations- noch mit Präzipitationstechnik gegen Tumorantigen ein positives Ergebnis erzielt werden. Dagegen wurden in den Rattenserum dieser Gruppe Antikörper gegen Serumproteine des Kaninchens nachgewiesen.

Fluoreszenzoptische Befunde lagen hier nicht vor.

2.2.3.6 *Ergebnisse der Kontrollgruppe zu III und IV*

(Ratten, die lediglich Kaninchenserum vor Transplantation des Tumorzellmaterials injiziert bekamen)

2.2.3.6.1 Beobachtungen an den Tieren

Verhalten wie die Gruppen III und IV, d.h. Angehen der Transplantate durchschnittlich 5 Tage nach Inokulation, danach retardiertes Wachstum, Überlebenszeit bis zu 20 Tage (15 bis 28 Tage).

2.2.3.6.2 Serumproteinveränderungen

praktisch wie bei den Gruppen III und IV, hier nur mit stärkerer Beteiligung der γ -Globuline an der relativen Anreicherung von Globulinen.

2.2.3.6.3 Antikörper-Nachweisreaktionen

Keine positiven Reaktionen gegen Tumorphomogenat, hier weder mit Agglutinations- noch mit Präzipitationstechnik. Jedoch deutlich positive Titer bzw. Präzipitationsphänomene gegen das zur Sensibilisierung verwendete Kaninchenserum.

2.2.3.6.4 Fluoreszenzoptisch

entsprachen die Befunde denjenigen der Gruppe III.

2.2.3.7 *Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe V*

(Austauschtransplantation zwischen Rattenpaaren der gleichen Zucht)

2.2.3.7.1 Beobachtungen an den Tieren

Von den 30 operierten Tieren überlebten sämtliche den Eingriff. Unmittelbar post operationem kam es zu einem verlangsamten Wachstum der ver-

bliebenen Erst-Tumoren. Die Austauschtransplantate waren vier bis acht Tage nach Übertragung mit einer Ausnahme bei sämtlichen Ratten angegangen. Von diesem Zeitpunkt an kam es zwar zu einem nur langsamen Wachstum der neu-inokulierten Malignome, jedoch wuchsen die Erst-Transplantate von nun an so stark heran, daß schon nach weiteren zwei bis fünf Tagen die meisten der Versuchstiere ad exitum kamen. In einem einzigen Fall (nicht Paar) kam es zu einer Rückbildung sowohl des Erst-Transplantates als auch des zunächst angegangenen Zweit-Transplantates. Diese Ratte überlebte bis zu 10 Wochen.

2.2.3.7.2 Serumproteinveränderungen

wie bei tumortragenden Tieren.

2.2.3.7.3 Antikörper-Nachweisreaktionen

Es waren weder mit Agglutinationstechnik noch mit der zweidimensionalen Immundiffusion positive Reaktionen aufzuzeigen.

2.2.3.8 *Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe VI*

(Austauschtransplantation zwischen Rattenpaaren verschiedener Herkunft)

2.2.3.8.1 Beobachtungen an den Versuchstieren

Von den 30 operierten Tieren überlebten wiederum sämtliche den Eingriff; auch hier kam es unmittelbar post operationem zu einer Wachstumshemmung des verbliebenen Tumors. Das Angehen der Zweit-Transplantate war auch in dieser Gruppe bei allen Ratten um den 5. Tag nach Zellübertragung zu objektivieren. Beide Tumoren wuchsen von nun an sukzessive weiter heran, es kam aber bei den Erst-Transplantaten zu keinem überstürzten Wachstum und auch zu keinen Zerfallerscheinungen. Die Gesamtverfassung der Versuchstiere war, gemessen an ihrer Freßlust, der Beschaffenheit ihres Fells und der Agilität der Tiere, im Vergleich zu der Gruppe V wesentlich besser. Vom 12. bis 15. Tag nach Zweit-Transplantation an, einem Zeitpunkt, zu welchem ein Teil der Ratten der Versuchsgruppe V bereits an Tumorkachaxie zugrunde gegangen war, kam es bei insgesamt 17 Tieren zu einer Rückbildung zunächst des sekundär transplantierten Tumors, während von den übrigen 14 Ratten 4, und von nun an die weiteren 9 Tiere nacheinander eingingen bzw. wegen schwerer Ver-

fallserscheinungen zur Gewinnung ausreichender Serummengen in Narkose entblutet wurden.

Bei den 17 genannten Versuchstieren kam es nach weiteren zwei Tagen auch zu einem Stehen bzw. Rückgang des Wachstums der Ersttransplantate. Dennoch gingen auch aus dieser Untergruppe von 17 Ratten des Versuchs VI, 8 Tiere nacheinander ein. In 3 Fällen waren Symptome vom Typ eines anaphylaktischen Schocks mit Schnauz- und Pfotenödem vorausgegangen, in den übrigen 5 war eine hochgradige Kachexie aufgetreten.

Bei 9 Tieren waren vom 17. Tag nach Zweit-Transplantation (25. Tag nach Erst-Transplantation) an *beide* Tumoren sukzessive bis zum völligen Verschwinden zurückgegangen. Die Ratten nahmen unter gesteigerter Freßlust an Gewicht zu, das Fell verdichtete sich, sie überlebten bis zu 8 Wochen. Danach wurden sie letztmalig kontrolliert und in Narkose getötet. Aufgrund des Sektionsbefundes waren an den Inokulationsstellen der Erst- wie auch der Zweit-Transplantation keine Residuen eines Tumorgewebes mehr nachweisbar.

2.2.3.8.2 Verhalten der Serumproteine

Zunächst war bei allen Tieren eine Dysproteinämie wie bei tumortragenden Ratten festzustellen. Diese vertiefte sich nach Operation und Zweit-Transplantation, wobei vor allem eine Hypalbuminämie mit relativer Vermehrung von α_1 -Globulinen und eine Hypogammaglobulinämie als Charakteristika in Erscheinung traten.

Während diese Veränderungen bei 13 Ratten (s. o.) unverändert blieben bis zum letalen Ausgang des Versuches, kam es bei den 17 übrigen zu einer Verschiebung der Serumeiweißkörper mit zwar immer noch deutlicher Hypalbuminämie, jedoch weniger stark ausgeprägter α_1 -Vermehrung sowie jetzt auch einer Anreicherung von γ -Globulinen.

Die Endwerte, 8 Wochen nach Versuchsbeginn, zeigten hingegen eine völlige Normalisierung der relativen Serumproteinverteilung. Immunelektrophoretisch waren hier, abgesehen von Spaltungsphänomenen im γ G-Globulin-Bereich, keine Besonderheiten aufgedeckt worden. Dieses, auch in anderen Versuchsgruppen beobachtete Phänomen war nur bei einzelnen Tieren und nur flüchtig nachweisbar.

2.2.3.8.3 Antikörper-Nachweisreaktionen

Mit der *passiven Haemagglutinationsreaktion* nach BOYDEN waren bei insgesamt 12 Tieren von den oben erwähnten 17 Ratten mit Tumorwachstumshem-

nung bei 2. und 3. Kontrolle positive, allerdings niedrig-titrige Reaktionen nachweisbar. Die Titer lagen zwischen 1:8 und 1:32. Bei Kontrolle nach 8 Wochen Beobachtungszeit fanden sich positive Haemagglutinationen mit Tumorantigen in nur geringem Ausmaß: Titer von 1:2, 1:4 und maximal 1:8.

Der Nachweis präzipitierender Antikörper gelang in keinem Fall und zu keinem Zeitpunkt der hier beobachteten Versuchstiere.

2.3 Diskussion

Die vorliegenden Studien sollten in vergleichenden biochemischen und immunologischen Analysen der Homogenate normaler und maligne entarteter Gewebe sowie in tierexperimentellen Untersuchungsreihen zur Aufklärung eines tumorspezifischen, antigen wirksamen Faktors in malignen Geweben beitragen.

Vor Besprechung der Ergebnisse sei kurz auf die untersuchungstechnischen Voraussetzungen eingegangen. Hier erheben sich Fragen zur Aufbereitung der verglichenen Organ- und Tumorgewebe. Es steht außer Zweifel, daß einerseits – trotz sorgfältiger Entblutung der Organe – Beimengungen gewebsunspezifischer Faktoren, wie Blutgefäßinhalt, zu den Homogenaten nicht zu verhindern sind und daß andererseits organspezifische Komponenten, etwa Bindegewebe und hochmolekulare Proteine, bei gehandhabter Organaufbereitung nicht miterfaßt werden; diese makromolekularen Substanzen werden entweder bereits beim Zentrifugieren als Bodensatz abgeschleudert oder sie bleiben bei der elektrophoretischen Trennung im Agarmilieu an der Auftragestelle liegen. Unter Berücksichtigung entsprechender Angaben der einschlägigen Literatur [8; 96d; 120; 143; 149; 175b; 163; 192a; 192b; 196a; b; 197; 202; 265a, b; 269; 271] und auch früherer eigener Erfahrungen [89; 92; 94; 214b; 218; 219] sowie aufgrund von bisher nicht publizierten eigenen Vorversuchen mit verschiedenen Organaufbereitungsmethoden, darf festgestellt werden, daß mit dem für die vorliegenden Analysen gewählten Verfahren die bestmögliche Ausbeute löslicher Organ- bzw. Gewebsproteine erzielt werden kann. Die oben erwähnten Faktoren dürfen deshalb mit Bezug auf die Analysen der löslichen Gewebsproteine vernachlässigt werden.

Dieselben Erwägungen gelten grundsätzlich auch für die immunologischen Techniken, so bereits für die Gewinnung spezifischer Gewebs- und Tumor-

Antiseren. Wie im methodischen Teil erwähnt, wurden die entsprechenden Antiseren durch Heterosensibilisierung von Kaninchen gewonnen. Tiere, die mit Gewebsantigenen einer fremden Spezies sensibilisiert werden, reagieren unter Bildung spezifischer Antikörper gegen eine Vielzahl von Antigenen. Außerdem ergeben sich Unterschiede in der Antikörper-Konzentration, und zwar unabhängig von der Konzentration bzw. Relation der in einem Proteingemisch nachweislichen Einzelantigene; hier spielen die „relative Antigenität“ mit Bezug auf die Tierspezies wie auch die „Konkurrenz der Antigene“ im Antigengemisch eine entscheidende Rolle. Auf solche Faktoren hat in neuerer Zeit MILGROM (175b) aufmerksam gemacht und zu kritischer Interpretation von Heterosensibilisierungseffekten mit Organ- und Tumorextrakten ermahnt. Es darf aber in diesem Zusammenhang betont werden, daß in vorliegender Arbeit derartige unspezifische Faktoren, aber auch Hyperimmunisierungssphänomene, durch die modernen Absorptionsverfahren mit adäquaten Antigensystemen bzw. durch Herstellung von Verdünnungsreihen weitgehend eliminiert wurden, so daß, wenigstens für die Präzipitationstechniken, diese gewebunspezifischen Faktoren nicht ins Gewicht fallen.

Schwieriger ist die Frage zu beantworten, ob bei der passiven Haemagglutinationsreaktion, d.h. bei der Bindung von Gewebshomogenaten an die Oberfläche tannierter Erythrozyten alle antigenen Komponenten gleichermaßen fixiert werden. Viele Autoren haben deshalb diese Methode zum Nachweis zirkulierender Tumor- und Gewebsantikörper umgangen und die Komplement-Bindungsreaktion vorgezogen [52; 53; 71; 77; 103a, b; 106; 122a, b; 123a, b; 139; 167; 176]. Es steht außer Zweifel, daß für die Erythrozyten-Agglutination Einzelantigene besser geeignet sind als Antigengemische, wie Serum und Gewebshomogenate. Die Erfahrungstatsache jedoch, daß die passive Haemagglutinationsreaktion auch mit Organhomogenaten, insbesondere mit wäßrigen Extrakten (gepufferte Kochsalzlösung) carcinomatös veränderter Organe erfolgreich zum Nachweis zirkulierender Gewebs- und Tumorantikörper angewandt wurde [3; 42; 96d; 163] und weiterhin die Tatsache, daß zumeist positiv ausgefallene Haemagglutinationsreaktionen zwischen Gewebsantigenen und -Antikörpern auch entsprechende Präzipitationsreaktionen ergaben, entkräftigt die dargelegten Bedenken mit Bezug auf eine ausreichende Fixation von Gewebshomogenaten an tannierte Erythrozyten.

Somit konnte die vorliegende Versuchsanordnung mit den allgemein gültigen Nachweismethoden zur Aufklärung von Proteinfraktionen, Antigensystemen und Antikörpereigenschaften in Einklang gebracht werden.

Die Protein- und Enzymmuster der verschiedenen untersuchten *menschlichen* Tumorphomogenate weisen im Vergleich zu denjenigen der Normalgewebe folgende Unterschiede auf: Tumorphomogenate zeigen mit Bezug auf die Anzahl elektrophoretisch und immunoelktrophoretisch differenzierbarer Protein- bzw. Antigensysteme eine auffällige Verringerung löslicher Proteine bzw. einen *Verlust an antigenen Komponenten*. Tumorphomogenate bieten darüber hinaus mit Bezug auf das *Verteilungsmuster* der einzelnen Protein- und Enzymfraktionen, ungeachtet ihrer geweblichen Herkunft, ein relativ *uniformes Bild*, wogegen die Homogenate normaler menschlicher Organe nahezu „organspezifische“ Protein- und sogar Ferment-Konstellationen erkennen lassen [89; 91; 92; 93; 94; 192; 217; 218; 219; 221]. Somit kann allein aufgrund der biochemischen Ergebnisse festgestellt werden, daß *maligne entartetes Gewebe seine organspezifischen Merkmale verliert*, insgesamt eine *Reduzierung* und *Uniformierung* seiner ursprünglichen Proteinsysteme erleidet und damit gewissermaßen biochemisch definierbare „tumorspezifische“ Kriterien erlangt.

Im einzelnen ist dabei das *Proteinmuster* von Tumorphomogenaten regelmäßig auf Kosten der im Normalgewebe vorkommenden Albumin-, Vor- und γ -Globulin-Nachfraktionen verkürzt. Gesamteiweiß wie Albuminfraktion sind vermindert. Die hauptsächlichen Proteinkomponenten des Tumorphomogenats konzentrieren sich auf den α - und β_2 -Globulin-Bereich; das γ -Globulin erscheint vermindert. Insgesamt kommen zumeist 6 Fraktionen zur Darstellung, unter welchen der α_2 -Komplex sowie eine relativ scharf begrenzte Komponente im β_2/γ -Bereich bei nahezu allen Tumoren quantitativ besonders hervortreten; letztere Fraktion findet sich in diesem Ausmaß in Normalgeweben nicht.

Aufgrund der Kohlenhydratfärbung handelt es sich bei den besonders hervorgehobenen Proteinfraktionen um *Glykoproteide*, Glykoproteide scheinen im Tumorgewebe insgesamt in höherer Konzentration vorzuliegen als in Normalgeweben, eine Beobachtungstatsache, die mit den Angaben anderer Autoren [34; 46; 60; 159; 247] übereinstimmt, und die vielleicht auch für die Genese des α_2 -Konstellationstypus der Serumproteine tumortragender Individuen Bedeutung erlangt [107; 194; 226; 231; 277].

Lipoproteide sind nur in geringer Konzentration – hier vorwiegend im α_2/β -Globulin-Bereich – und an der Auftragestelle nachweisbar. Dieser Befund mag einer Kontrolle bedürfen, da die hier verwendete Agarelektrophorese für das Studium von Lipoproteiden aus hinlänglich bekannten Gründen [88c; 88d; 124] für eine optimale Ausbeute nicht ge-

eignet ist: Lipoproteide verhalten sich wie Makroglobuline, die darüber hinaus Komplexbildungen bzw. echte Bindungen mit den Schwefelsäure-Estern des Agars eingehen und somit weder ausreichende elektro-phoretische noch Diffusionseigenschaften entwickeln können. Sie bleiben zumeist an der Auftragestelle liegen.

Proteingebundenes *Kupfer* findet sich in Tumorhomogenaten verschwindend gering, und zwar im α_2 -Globulin-Bereich, eine Feststellung, die mit den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren [272] nicht übereinstimmt; im Tumorgewebe soll der Gehalt an proteingebundenem Kupfer und Eisen verhältnismäßig höher sein als in Normalgeweben. Die Diskrepanz zu den vorliegenden eigenen Befunden ist auf verschiedene Weise zu erklären: zunächst handelt es sich bei den hier verglichenen Befunden um Ergebnisse mit völlig unterschiedlicher Technik; weiterhin wurde in den vorliegenden Untersuchungen der Kupfernachweis ausschließlich im Überstand eines zentrifugierten Tumorhomogenats vorgenommen, während die Bestimmung des Kupfergehaltes in oben erwähnter Arbeit in den Totalhomogenaten der verschiedenen Gewebe erfolgte; schließlich ist die Diskrepanz in den Resultaten damit zu erklären, daß Kupfer und Eisen nicht depotfähig in Tumorzellen vorliegt und in Abhängigkeit von dem erhöhten Zellstoffwechsel des malignen Gewebes rasch umgesetzt bzw. eliminiert wird und infolgedessen der Analyse entgehen kann.

Die hier vorgenommenen Analysen zum Nachweis verschiedener *Enzymsysteme* ergab für die normalen Organhomogenate, wenigstens für die *Lactatdehydrogenase* (LDH) [10; 192a, b; 218; 257a, b; 263] sowie für Esterasen [217] eine Art Enzymmuster bzw. Isoenzymmuster, die in gewissem Umfange organcharakterisierend sind. Im malignen Gewebe findet sich vor allem eine Besonderheit: sie betrifft die LDH und besteht darin, daß eine weitgehende Reduzierung der Isoenzyme I bis einschließlich IV offensichtlich wird mit isolierter Anreicherung der LDH V, die, mit Bezug auf die Gesamtaktivität, die Werte in normalen Geweben oft um ein Vielfaches übersteigt. Diese Beobachtungstatsache steht im Einklang mit den Feststellungen anderer Autoren [10; 192a, b; 202; 203; 204; 281a, b], die in malignen Gewebshomogenaten ebenfalls eine Relationsänderung der Isoenzyme mit Verminderung oder Schwund der LDH I–IV und deutlicher Vermehrung der LDH V nachgewiesen haben. PFLEIDERER und WACHSMUTH [192a, b; 257a, b; 263] sowie CAHN et al. [43] haben diese Wandlung des Enzymmusters der LDH im Verlaufe einer geweblichen Entartungsreaktion mit den damit einhergehenden andersartigen Stoff-

wechseltvorgängen in Zusammenhang gebracht: von einer Reihe normaler Gewebe ist bekannt [s. bei 218], daß deren LDH-Verteilungsmuster Rückschlüsse auf ihre Sauerstoffversorgung und ihren Sauerstoffbedarf zuläßt; es findet sich eine Anreicherung der LDH I und II in solchen Organen, welche einen hohen Sauerstoffbedarf aufweisen, so z. B. im Herzmuskel, im Gehirn, in der Niere; es findet sich eine Anreicherung der LDH IV und V in solchen Geweben, die ihre Energie unter anaeroben Bedingungen gewinnen, so z. B. im Skelettmuskel und in der Leber. Demzufolge findet sich im malignen Tumorgewebe eine gesteigerte aerobe Glykolyse, wie dies im übrigen mit anderer Nachweisttechnik von WARBURG [258a, b, c; 259] längst unter Beweis gestellt wurde.

Die *Esterasen* verhalten sich uncharakteristisch. In einzelnen Fällen erscheinen sie stärker konzentriert, in anderen sind sie einwandfrei vermindert, wie dies von RAPP et al. [196a, b] am Beispiel des Magencarcinoms ebenfalls gezeigt werden konnte. Unabhängig von diesen rein quantitativen Unterschieden findet sich in einem Teil maligner Gewebe ein Esterase-Verteilungsmuster, das durch eine Art „Rechtsverschiebung“ mit vorwiegender Darstellung kathodisch gewanderter Fermente gekennzeichnet ist, während in anderen Tumorphomogenaten die esteraseaktiven Fraktionen auf den anodischen Wanderungsbereich beschränkt sind. Folgerungen etwa auf den Funktionszustand der maligne entarteten Zellen oder auf Zerfallsvorgänge innerhalb des Tumors sind vorerst aus diesen Befunden nicht zu schließen.

Für alle übrigen Enzyme ergaben sich wenig charakteristische Befunde, dies sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Hinsicht.

Die verschiedenen *immunologischen Analysen* haben ergeben, daß Tumorgewebe im Vergleich zu Normalgewebe durch den Verlust antigener Komponenten gekennzeichnet ist, und daß die verbliebenen Proteinsysteme des malignen Gewebes mit den Eiweißkörpern der Normalgewebe zur Hauptsache Identitäts-, daneben aber wenigstens partielle Identitäts- bzw. Kreuzreaktionen ergeben. In drei von den hier untersuchten Homogenaten blieben nach erschöpfender Absorption des jeweils spezifischen Anti-Tumorsersums durch Normalgewebe je ein Eiweißsystem erhalten, das im Mamma-Carcinom sowohl als auch im Hypernephrom einem α_2 -Glykoproteid entspricht, und das bei einem Colon-Carcinom einem β_2/γ -Globulin, ebenfalls mit Glykoproteidnatur, gleichkommt.

Die dargelegten Besonderheiten menschlicher Tumorphomogenate, die also einerseits in einem Verlust von Protein- und Fermentkomponenten bzw. antigener Proteinstrukturen bestehen, und die andererseits

im Auftreten wenigstens einer Komponente zu sehen sind, die im Normalgewebe nicht nachweisbar ist, finden ihre Bestätigung durch eine Reihe bekannt gewordener Einzelbeobachtungen: So zeigen KUSHNER et al. [149] sowie RAPP et al. [196a, b; 197] mit biochemischen und immunologischen Methoden bei Vergleich der löslichen Proteinkomponenten von Magencarcinomen und normaler Magenschleimhaut, daß in der maligne entarteten Schleimhaut verschiedene Proteine, Esterasen und Proteasen vermindert oder nicht mehr nachweisbar sind. Über den Verlust gastrointestinal-spezifischer Antigene bei malignen Tumoren des Verdauungstraktes berichten weiterhin NAIRN, FOTHERGILL, McENTEGART und RICHMOND [185]. Desgleichen beschreiben SELIGMANN, GRABAR und BERNARD [230] sowie MILGROM, SELIGMANN, GRABAR und BERNARD [176] eine Reduzierung antigener Komponenten in den Zellextrakten von Leukämiezellen im Vergleich zu denjenigen normaler Leukozyten. NELKEN [186] berichtet über das Fehlen individualspezifischer Antigene in den Leukämiezellen bei einem Fall von akuter Leukämie. Gewebsspezifische Autoantigene fehlen schließlich auch in malignen Tumoren der Schilddrüse, wie dies GOUDIE und McCALLUM [87] beobachtet haben.

Weitere Studien an menschlichen Tumor- und Normalgewebshomogenaten liegen u. W. bis heute nicht vor. Dagegen findet sich eine große Anzahl von Ergebnissen mit chemisch (durch Cancerogene) induzierten Tumoren im Tierexperiment, die prinzipiell mit den spontan gewachsenen Malignomen vergleichbar sein dürften. So demonstrierten WHITCUTT und ELSON [262] am Beispiel induzierter Hepatome der Ratte die Wandlung und Reduzierung des Protein- und Fermentmusters der Rattenleber unter der Hepatomentwicklung. Am gleichen Modell beschrieb WEILER bereits 1952 [261a] und später [261b, c] eine mit der Malignomentwicklung, hier Hepatocarcinogenese, einhergehende graduelle Reduzierung eines organspezifischen Proteins und dessen Fehlen im histologisch „ausgereiften“ Hepatom. Weiterhin berichtet BALDWIN [11] über Änderungen, d. h. die Reduzierung in der Antigenkomposition subzellulärer Leberzellfraktionen unter chemisch induzierter Hepatomentwicklung. Prinzipiell gleichartige Beobachtungen an Leberzell- und Hepatomantigenen teilen KALNINS und STICH [135], aber auch KHRAMKOVA, POSTNIKOVA und ABELEV [138], ABELEV et al. [1a] u. a. [2] mit. ABELEV berichtet später [1b] über Studien, wonach die organspezifische Antigenkomponente in Hepatomen nur schwächer ausgeprägt, jedoch nicht völlig verlustig gegangen ist.

WEILER [261b, c] verglich schließlich auch die Antigenstrukturen der normalen Hamsterniere mit denjenigen eines durch Stilboestrol induzierten

malignen Nierentumors. Mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion und der Fluoreszenztechnik untersuchte WEILER Zytoplasmafraktoren und stellte fest, daß auch hier im Tumorgewebe das nierenspezifische Organantigen nicht mehr nachweisbar war.

Zur Frage dessen, ob neben der Dedifferenzierung eines Gewebes im Verlaufe einer malignen Entartung die dabei resultierenden Endstrukturen im Protein- und Fermentmuster zugleich eine Transformation ihrer Aminosäuresequenzen erfahren und somit Antigenität erlangen können, oder ob in diesem Prozeß neue, tumorspezifische antigenwirksame Komponenten auftreten, muß, unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur, folgendes festgestellt werden:

Die vorliegenden eigenen Ergebnisse zeigen, daß unter den löslichen Proteinen von Tumorphomogenaten mit ziemlicher Regelmäßigkeit eine Fraktion mit den Eigenschaften eines β -Globulins hervortritt, die in Normalgeweben nicht beobachtet wird, mit Bezug auf seine immunologischen Eigenschaften mit β -Globulinen normaler Gewebe jedoch kreuzreagiert (s. auch unten). Darüber hinaus sind die im α_2 -Globulin-Bereich gelegenen Glykoproteide quantitativ stärker vertreten als in nicht entarteten Organen. Es konnten aber auch mit immunologischer Technik in Einzelfällen Eiweißsysteme nachgewiesen werden, die in den entsprechenden Normalgeweben nicht enthalten waren. Auffallend jedoch in den vorliegenden Ergebnissen ist die Tatsache, daß in den meisten Fällen ein immunologisch definierbares, tumorspezifisches Kriterium nicht offensichtlich wird. Wiewohl also zwischen den Protein- und Fermentsystemen des Normal- und Tumorgewebes neben den bereits erwähnten quantitativen Abweichungen auch deutliche Unterschiede in deren Verteilungs- bzw. Präzipitationsmuster nachweislich sind, so erweisen sich dennoch sämtliche Tumorantigene als immunologisch identisch oder wenigstens kreuzreagierend mit Systemen des Normalgewebes, wie dies in den immunologischen Absorptionsversuchen gezeigt werden konnte. Nach neuerer Ansicht ist es jedoch möglich, daß eine tumorspezifische Substanz in den unlöslichen Antigen- bzw. Eiweißkomponenten der Zellmembran enthalten ist (s. unter 3.!).

Die eigenen Befunde an menschlichen Tumoren stehen mit Bezug auf den Nachweis eines tumorspezifischen, antigen wirksamen Faktors mit einer relativ großen Anzahl von Mitteilungen der einschlägigen Literatur im Einklang (s. S. 6 bis 8). Diesen Untersuchungsergebnissen zufolge wurden in Tumorgeweben verschiedene Komponenten aufgedeckt, die Malignomspezifität besitzen sollen, oder die zumindest in adäquaten normalen Geweben nicht nachweisbar waren. Die Bedeutung solcher Faktoren wird jedoch

vermindert durch den Tatbestand, daß die von verschiedener Seite beschriebenen vermeintlich tumorspezifischen Substanzen aufgrund ihrer biochemischen und immunologischen Eigenschaften recht unterschiedliche Merkmale besitzen, so daß sie als Malignitätskriterien schlechthin nicht gelten können. Die Erfahrung lehrt überdies, daß beim Menschen eine aktive Sensibilisierung durch Tumor-(Auto-)antigene offenbar nicht erfolgt. Zwar bestehen aufgrund der Mitteilungen der einschlägigen Literatur Anhaltspunkte dafür, daß bei malignen Prozessen im Serum der Kranken Antikörper gefunden werden können, die gegen maligne Gewebskonstituenten gerichtet sind [96d], wie dies AIZAWA und SOUTHAM [3] mit der passiven Haemagglutinationsreaktion an Kranken mit verschiedenen malignen Tumoren demonstrieren konnten, und wie dies, ebenfalls mit der Haemagglutinationstechnik von anderen Autoren an Patienten mit Dickdarmtumoren (BUFFE et al. [163], Magencarcinomen [31], Mamma-Carcinomen [162], aber auch mit verschiedenen anderen Antikörper-Nachweisreaktionen, etwa der Komplementbindungsreaktion [103a, b] oder, wie von ZILBER [278b, c] an menschlichen Sarkomen und Leukosen mit dem Nachweis anaphylaktischer Reaktionen oder mit dem SCHULTZ-DALE-Versuch [169a, c] u. a. m. [52; 53; 71; 106; 128; 173] berichtet wurde. Diese Antikörper scheinen jedoch für die Fortentwicklung des malignen Gewebes, die Frage der infiltrativen Ausbreitung eines Tumors bzw. dessen Metastasierung, keine Bedeutung zu erlangen; sie sind allenfalls als Indikatorfaktoren zu werten, obwohl selbst diese Rolle umstritten ist. HERMANN und GRABAR [120] berichten in diesem Zusammenhang, daß sich z. B. die im Patientenserum mit Dickdarmtumoren enthaltenen Antikörper, die für die positive Agglutinationsreaktion mit den Homogenaten von Dickdarmcarcinomen verantwortlich gemacht werden, mit relativ großen Mengen von Extrakten aus normalem Gewebe, aus embryonalem Gewebe und mit einer mikrosomalen Fraktion erschöpfen lassen, so daß es sich also bei diesen Faktoren nicht um tumorspezifische Antigene bzw. Antikörper, wohl aber um körpereigene, d. h. individualspezifische Gewebskomponenten handeln muß, die auch in verschiedenen Tumoren vermehrt vorkommen. Somit scheint also eine aktive Sensibilisierung durch lösliche Tumorproteine eines spontan in einem Organismus entwickelten Malignoms pathogenetisch eine untergeordnete Rolle zu spielen. Bleibt die Frage offen, ob nicht immunologisch kompetente Zellen des retikuloendothelialen Systems die von einem ursprünglich tolerierten Gewebe abgewandelten Tumorproteine als gleichsam fremd empfinden, sie m. a. W. nicht mehr tolerieren und infolgedessen eine primäre Antikörperbildung gegen diese Tumorsysteme in die Wege leiten. Allerdings

müßten auch in diesem Falle Antikörper, seien es zirkulierende, seien es zellvermittelte Antikörper, nachweisbar werden, und es würden auch hier Kreuzreaktionen mit normalen Gewebsproteinen nicht ausgeschlossen sein (vergleiche hierzu ab S. 76).

Die Ergebnisse der Untersuchungen an *rattentransplantablen* Tumoren im Vergleich zu deren Muttergewebe erbrachten keine so tiefgreifenden Unterschiede in der Komposition der Protein- bzw. Antigenfaktoren. Lediglich das LDH-Isoenzymmuster zeigte in den malignen Geweben die typische Verschiebung in Richtung der LDH V mit gleichzeitiger enormer Anreicherung dieser Fraktion. Diese Befunde stehen im Einklang mit den Resultaten der einschlägigen Literatur [164; 165; 182; 189; 193; 228; 229; 236a, b; 237]. Insbesondere konnte hier mit immunologischer Technik kein sicheres Antigen mit Tumorspezifität aufgedeckt werden. Vielleicht erklärt sich diese Tatsache daraus, daß transplantable Tumoren durch deren fortgesetzte Übertragung ihre tumorspezifischen Antigenitätsmerkmale verlieren, wie dies WOODRUFF u. SYMES [274] demonstrieren konnten. Es besteht also aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse ein deutlicher Unterschied im Protein- bzw. Antigen-Verteilungsmuster zwischen spontan entwickelten und chemisch induzierten Tumoren und dem von Transplantationstumoren. Transplantierte Tumoren scheinen, unter der Voraussetzung, daß sie überhaupt in einem Wirtsorganismus angegangen sind, sehr bald einen Angleichungsprozeß an das Empfangsorgan zu beginnen mit dem Endergebnis einer weitgehenden Transformation des ursprünglichen Proteinsystems und Tolerierung des transplantierten Gewebes durch den Wirt. In jüngster Zeit wurden ähnliche Beobachtungen aus einer anderen eigenen Versuchsreihe an menschlichen Tumoren mitgeteilt: Menschliche Tumoren verschiedener Herkunft, welche in die Backentasche von Hamstern inokuliert wurden und dort langsam herangewachsen waren, haben mit Bezug auf ihr ursprüngliches Antigensystem einerseits eine Anzahl spezies-spezifischer Proteine verloren, dafür andererseits aber hamsterspezifische Faktoren erworben [81].

Die weiteren *tierexperimentellen* Ergebnisse haben gezeigt, daß in den vorliegenden Versuchsreihen in keinem der Seren tumortragender Ratten zirkulierende Antikörper gegen das spezifische Tumorgewebe auftraten, m.a.W. daß die transplantierten Tumoren keine autosensibilisierende Wirkung auf den Trägerorganismus ausgeübt haben. Dieser in sämtlichen Einzelversuchen erhobene Befund steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren [4; 12a, b; 75; 76; 114; 130; 131; 132; 133; 134;

175a; 238], er steht aber im Widerspruch zu anderen Literaturangaben [9; 23; 25c; 25d; 27; 69; 70; 77; 82a, b, c; 85; 86; 178; 179]. Aufgrund des oben Erwähnten dürfte die Erklärung darin liegen, daß bei der gewählten Versuchsanordnung die Transplantationstumoren vom Trägartier offensichtlich toleriert worden sind. Bestätigt wird diese Tatsache durch die weiteren speziellen Versuchsergebnisse, die darin zum Ausdruck kommen, daß es weder gelang, mit dem gleichen Tumorantigen eine Autosensibilisierung zu induzieren, noch mit dem spezifischen Antitumorserum eine immunologische Hemmung des Zellwachstums, aber auch kein Enhancementphänomen hervorzurufen. Selbst ein spezifisches Anti-DNS-Serum vermochte auf die Prozeßaktivität bzw. die Wachstumstendenz der transplantierten Tumoren keinen nennenswerten Einfluß auszuüben.

Die *immunfluoreszenzoptischen* Ergebnisse bestätigen diese serologischen Befunde, da es in keinem der untersuchten Fälle gelang, mit dem Serum tumortragender Ratten am Schnitt des angegangenen und herangewachsenen Tumors positive Fluoreszenz nachzuweisen.

Die Beobachtungen mit Bezug auf die *Überlebenszeit* der Tiere aus den verschiedenen Versuchsgruppen, hier vor allem die Feststellung der relativ längeren Lebenszeit der Tiere, die mit Antiseren (Anti-Tumor- und Anti-DNS-Seren) behandelt wurden, und außerdem die Beobachtung, daß in diesen Gruppen die Tumorentwicklung entweder langsamer erfolgte oder sogar völlig reduziert wurde, kann u. E. nicht als Ausdruck einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion betrachtet werden, sondern muß wohl als Folge der akut einsetzenden Sensibilisierung durch das gleichzeitig übertragene Fremdserum aufgefaßt werden. Aus der Humanpathologie sind derartige Verlaufsformen bei malignen Prozessen geläufig, wonach z. B. bei einem metastasierenden Mamma-Carcinom durch Inokulierung einer akuten Hepatitis epidemica eine Retardierung des Metastasierungsgeschehens oder sogar ein objektivierbarer Rückgang von Tochtergeschwülsten nachweislich wird [19 und eigene Beobachtungen].

Tiefgreifende Veränderungen zeigten sich im *Verhalten der Serumeiweißkörper* der tumortragenden Ratten. Sie bestanden im wesentlichen in einer Dysproteinämie und in einer starken Anreicherung der LDH-Aktivität mit Auftreten einer Komponente, die dem Isoenzym V entspricht, und die im normalen Rattenserum kaum zur Darstellung gelangt. Über die normale Serumeiweißkonstellation der Ratte sind im einschlägigen Schrifttum [57; 80; 158; 180; 181] und aufgrund früherer eigener Studien [20; 213a; 220]

fundierte Kenntnisse gegeben. Sie stimmen mit den hier vorliegenden Ausgangswerten für die papierelektrophoretischen Ergebnisse wie für die Agartechnik überein. Die regelmäßig beobachtete Dysproteinämie in der Gruppe der tumortragenden, sonst aber nicht behandelten Ratten, mit Hypalbuminämie und Anreicherung vor allem von α -Globulinen, stellt einen Befund dar, der als relatives Tumorkriterium sowohl aus der experimentellen [45; 46; 60; 137] als auch aus der Humanpathologie bekannt ist [72; 161; 206; 215; 275]. Die Ursachen dieser Verschiebungen sind bis heute nicht völlig geklärt. Möglicherweise spielen für die Entwicklung dieser pathologischen Serumeiweißkonstellationen entzündliche bzw. nekrotisierende Prozesse entweder im Bereich des Tumors selbst oder i. S. einer Sekundärinfektion eine Rolle, so daß gewissermaßen der von der akuten Entzündung her bekannte Dysproteinämietyp dominiert. Daß es sich wahrscheinlich nicht um ein spezifisches Tumorkriterium handelt, wird u. a. dadurch unterstrichen, daß es aus der Humanpathologie geläufig ist, daß Carcinomkranke mit oft ausgedehnten Prozessen, ja sogar mit Metastasen, überhaupt keine nennenswerten Verschiebungen ihrer Serumeiweißkörper aufweisen. Die bei einzelnen Tieren gefundene Hypo- bzw. Agammaglobulinämie ist von der Humanpathologie ebenfalls bekannt (eigene Beobachtungen). Dieses Phänomen kann dahingehend gedeutet werden, daß infolge der konsumierenden Erkrankung durch den Tumor selbst und durch die eiweißkatabolen Vorgänge die γ -Globulin- bzw. Antikörperproduktion erschöpft wird. Es ist aber auch möglich, daß dieser Befund Ausdruck einer langfristig erfolgten immunologischen Auseinandersetzung des Wirtsorganismus mit seinen Tumorproteinen, unter Verbrauch der gebildeten molekularen Antikörper ist.

In der Gruppe der mit Anti-Tumor und Anti-DNS-Serum vom Kaninchen vorbehandelten und transplantierten Tiere war die Dysproteinämie durch eine Hypalbuminämie und eine Anreicherung vor allem von β - und γ -Globulinen ausgezeichnet. Hieraus darf abgeleitet werden, daß offenbar eine Sensibilisierung mit aktiver Antikörperbildung durch das xenogene Kaninchenserum erfolgt ist, was im übrigen durch die Agglutinations- und Präzipitationsreaktionen bewiesen werden konnte.

Dieser Konstellationstyp ist seit langem auch in der Literatur als Folge eines abgelaufenen Immunisierungsprozesses deklariert und im übrigen auch in früheren eigenen Studien an der Ratte aufgezeigt worden [88a; 213b; 222a, b, c]. Im vorliegenden Zusammenhang überrascht dieser Befund allerdings insofern, als die Sensibilisierungsfolgen durch das Kanin-

chenserum im Vergleich zu den Serumeiweißverschiebungen unter der Tumorenentwicklung offensichtlich dominieren.

Die *immunoelektrophoretischen* Ergebnisse entsprechen mit Bezug auf die Normalbefunde bei Ratten eigenen Erfahrungen. Die im Rahmen der verschiedenen Versuche erhobenen Befunde bzw. Präzipitationsphänomene stehen im großen und ganzen im Einklang mit den Dysproteinämietypen der Papierelektrophorese und der einfachen Elektrophorese im Agargel. Aufgrund der besseren Differenzierung kann festgestellt werden, daß die α -Vermehrung vorwiegend durch eine Anreicherung von α_2 -Makroglobulin, α_2 -Haptoglobin und α_2 -Coeruloplasmin, die im übrigen sämtlich Glykoproteidnatur aufweisen, bedingt ist. Darüber hinaus konnte in einigen Fällen von tumortragenden Ratten im β/γ -Globulinbereich eine Präzipitationslinie wahrgenommen werden, die in Normalseren nicht nachweisbar ist und außerdem ein Aufspaltungsphänomen im γ -Globulin-Bereich, Befunde, wie sie in der Literatur vereinzelt auch beschrieben wurden [48; 168; 201; 246a, b]. Ein Paraprotein, etwa vom Typ eines Myelomproteins, wie dies DECKERS [54] in einer Gruppe seiner Leukosarkomratten beobachtet hat, konnte im vorliegenden Untersuchungsgut jedoch nicht aufgezeigt werden. Es ist zu diskutieren, ob die im einschlägigen Schrifttum beschriebenen und auch hier gefundenen Besonderheiten in den Seren tumortragender Ratten als tumorspezifische Kriterien zu werten sind, oder ob sie Ausdruck sind einer tiefgreifenden Störung im Proteinstoffwechsel, und damit in den vorliegenden Beispielen unspezifisch. Obgleich ein Zusammenhang des Tumorproteinmusters mit dem Serumproteinmuster der tumortragenden Ratte leicht zu konstruieren wäre – man denke nur an die beschriebenen Charakteristika der elektrophoretisch analysierten WALKER- und YOSHIDA-Homogenate mit α -Anreicherung und Nachweis eines β/γ -Globulins –, so dürften die immuno-elektrophoretischen Serumbefunde nur als Folge des konsumierenden pathologischen Prozesses angesehen werden, dies schon deshalb, weil die einzelnen Befunde keine Gesetzmäßigkeiten erkennen lassen.

Neben diesen Proteinverschiebungen kam es zu einer Anreicherung von *Glykoproteiden*, ebenfalls ein Befund, der vor allem aus der Humanpathologie bekannt ist [44; 107; 165; 226; 277].

Unter den hier untersuchten *Serumfermenten* der Ratte muß der LDH die größte Bedeutung beigemessen werden: es darf angenommen werden, daß dieses Enzym dem Tumor entstammt, und daß seine enorme Anreicherung mit seiner zugleich qualitativen Übereinstimmung mit der Tumor-LDH V

als diagnostisch verwertbares Kriterium Bedeutung erlangt. Während also für die vorliegende Versuchsanordnung die Herkunft der LDH aus dem Tumorgewebe als sicher zu gelten hat, bleibt vorerst noch offen, ob z. B. auch Esterasen oder Sulfatasen, die im Serum tumortragender Ratten ebenfalls vermehrt angetroffen wurden, dem Tumor entstammen. Ein solcher Freisetzungs- bzw. Permeierungsmechanismus aus Tumorzellen ist für Esterasen nicht sehr wahrscheinlich, da qualitativ abartige, tumoreigene Esterasen im Serum der Versuchstiere nicht aufgezeigt werden konnten. Dagegen besteht die Möglichkeit für Sulfatasen, daß sie als gewebs- bzw. tumorspezifische Indikator-faktoren im Serum der erkrankten Tiere in Erscheinung treten.

Das interessanteste Ergebnis unter den tierexperimentellen Befunden stellt die Beeinflussbarkeit des Tumorstwachstums durch gekreuzte Transplantation zwischen verschiedenen Tierstämmen dar. Dieses Phänomen darf wohl als Ausdruck einer Allosensibilisierung i. S. der Transplantationsimmunität mit Abstoßung des Tumorgewebes gewertet werden. Ein Individuum A bildet demnach gegen Alloantigene, also gegen Normal- und ebenso gegen Tumorproteine eines anderen Ratten-Stammes B Alloantikörper. Es bildet im Falle des Tumorantigens Antikörper gegen die Eigenschaft B als auch gegen die Tumorproteine als solche. Damit wird es erklärbar, daß die auf dem Wege einer solchen Allosensibilisierung induzierten Anti-Tumor-Antikörper nunmehr nicht nur gegen das Allo-Zweittransplantat sondern auch gegen den erstübertragenen Tumor gerichtet werden. Die Tatsache, daß im vorliegenden Untersuchungsgut die Erfolgsquote mit Bezug auf eine völlige Rückbildung der beiden transplantierten Tumoren nicht 100%ig ausfiel, ist wohl mit einer Diskrepanz zwischen Antikörperangebot und Wachstumsrate der malignen Zellen zu erklären.

Verantwortlich für diese Reaktion sind nach allgemeiner Ansicht [36; 37; 39; 212a, b] zellulär vermittelter Antikörper, wie mononukleäre Zellen bzw. Lymphozyten, die nach MEDAWAR [37; 174] nicht nur Träger derartiger Antikörper, sondern zugleich Überträger der geweblichen Abwehrvorgänge darstellen. Zirkulierende Antikörper können zwar nachgewiesen werden, sie spielen jedoch bei den immunologischen Auseinandersetzungen des sensibilisierten Organismus mit dem allogenen Gewebe für den „Abstoßungsprozeß“ nicht die entscheidende Rolle.

Die Feststellung, daß die bestmögliche Beeinflussung des Tumorstwachstums durch Allosensibilisierung, d. h. durch eine Abstoßung auf dem Boden einer aktiv erzeugten Transplantationsimmunität erfolgt, geht konform mit

der Auffassung anderer Autoren, vor allem von GORER [82a, b, c; 85] sowie SOUTHAM [238], die in der Allosensibilisierung auch die günstigsten Voraussetzungen für eine tumorspezifische Therapie erblicken. In einer Reihe von Arbeiten der einschlägigen Literatur [6; 70; 84; 108; 166; 178b; 184a, b, c] konnten derartige erfolgreiche Allosensibilisierungseffekte ebenfalls aufgezeigt werden. Nur wenige Autoren verneinen eine Beeinflussbarkeit des Tumorwachstums [12a, b] aufgrund ihrer tierexperimentellen Erfahrungen. Immerhin muß festgestellt werden, daß z. B. die Applikation spezifischer, im Heterosensibilisierungsversuch gewonnener und damit zirkulierender Antikörper gegen die Proteine eines transplantierten Tumors keine überzeugenden Hemmeffekte bedingt haben, und daß auch spezifische antinukleäre Faktoren das Transplantat in seiner Wachstumstendenz nicht oder kaum beeinträchtigen. Nicht völlig geklärt ist allerdings bis heute noch die Frage, ob in den Fällen einer vermeintlichen Transplantationsimmunität bei tumortragenden Individuen das – streng immunologisch definierbare – Allosensibilisierungsprinzip gewahrt wird und mit einer Antikörperbildung gegen individualspezifische Antigeneigenschaften der Tumorproteine einhergeht oder, wie dies GORER und AMOS [83] aufgrund ihrer Versuchsergebnisse für möglich halten, ob es sich hierbei um eine Sensibilisierung gegen die Eigenschaft „Tumor“ bzw. „Malignom“ (als eine Organspezifität im weitesten Sinne des Wortes) handelt. Nach SNELL [233a, b, e; 234; 235] und ebenfalls AMOS und GORER [5] spielen die entscheidende Rolle bei solchen Sensibilisierungsvorgängen gegen Tumorgewebe genetisch definierbare Zellfaktoren, H-Faktoren, die auf Tumorspezifität hinweisen.

Das Prinzip der Allosensibilisierung wurde von anderen Autoren auf ganz andere Weise zu imitieren versucht, so durch die Abwandlung der Tumorentigene durch Röntgenbestrahlung [140, 141, 142], durch Bisdiazotierung mit Xenoantigenen, Kupplung an Fremderythrozyten, fermentative Abwandlung durch die Lebenstätigkeit von Viren und Bakterien oder durch Zellpassagen bzw. Zellkulturen im Wechsel mit Transplantationspassagen. Derartige Versuche haben zwar in den meisten Fällen zu einer Hemmung des Tumorwachstums geführt, gleichzeitig aber zu einer aktiven Sensibilisierung durch die gekoppelte heterologe Substanz, was im Hinblick auf Übertragung der Experimente auf die Humanpathologie bzw. -therapie untragbar erscheint, man denke nur an die Möglichkeit anaphylaktischer Reaktionen. Es wird deshalb weiteren Studien vorbehalten bleiben, das Prinzip der Allosensibilisierung, d. h. Transplantationsimmunität mit Bezug auf „Tumortransplantate“ weiterzuverfolgen.

2.4 Zusammenfassung

Zur Frage eines antigen wirksamen Faktors in malignen Tumoren wurden in vorliegender Arbeit vergleichende biochemische und immunologische Analysen an Homogenaten normaler und maligne entarteter Gewebe (sowohl menschlicher Spontantumoren als auch rattentransplantabler Tumoren) vorgenommen. Im Tierexperiment wurden darüber hinaus – unter jeweils verschiedener Versuchsanordnung – die immunologischen Eigenschaften transplanterter Tumoren (YOSHIDA-Sarkom und WALKER-Carcinom) geprüft.

Als Ergebnis konnte folgendes festgestellt werden:

1. Die *Protein- und Enzymmuster* der verschiedenen *menschlichen* Tumorphomogenate weisen im Vergleich zu denjenigen der entsprechenden Normalgeweben deutliche Unterschiede auf: sie zeigen mit Bezug auf die Anzahl elektrophoretisch und immunelektrophoretisch differenzierbarer Protein- bzw. Antigenysteme eine auffällige Verringerung löslicher Proteine, d.h. zugleich einen Verlust an antigenen Komponenten auf. Sie bieten darüber hinaus, ungeachtet ihrer geweblichen Herkunft, ein relativ uniformes Bild mit einzelnen, allen Tumoren gemeinsamen Kriterien. Unter den Fermentsystemen imponiert der Befund der LDH, der ebenfalls eine Reduzierung der Isoenzyme, hier der Komponenten I bis IV erkennen läßt; es tritt dafür das Isoenzym V mit starker Anreicherung in Erscheinung.
2. Die *tiertransplantablen Tumoren* zeigen im Vergleich zu den Human-Neoplasmen keine so tiefgreifenden Unterschiede in der Konstellation der löslichen Protein- bzw. Antigenfaktoren. Lediglich unter den Fermentsystemen weist auch hier das LDH-Isoenzymmuster in den maligne entarteten Geweben die typische Verschiebung mit gleichzeitiger enormer Anreicherung der Fraktion V auf.
3. Unter den *Serumveränderungen der Versuchstiere* imponieren eine ausgeprägte Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und Vermehrung von α -Globulinen, die immunelektrophoretisch als α_2 -Makroglobulin, α_2 -Haptoglobin und α_2 -Coeruloplasmin identifiziert werden konnten. Häufig fand sich in der Gruppe der lediglich tumortragenden Tiere eine Hypogammaglobulinämie, in einzelnen wenigen Fällen sogar eine Agammaglobulinämie. In den Gruppen, welche Anti-Tumor- und Anti-DNS-Seren vom Kaninchen appliziert bekamen, ist der Dys-

proteinämie-Typ durch eine zusätzliche Anreicherung von β - und γ -Globulinen ausgezeichnet. Immunelektrophoretisch finden sich im β/γ -Globulin-Bereich mehrfach zusätzliche Subfraktionen bzw. Aufspaltungsphänomene der γ G-Fraktion.

Die LDH V ist in den Seren der tumortragenden Ratten regelmäßig enorm erhöht.

4. Die Ergebnisse der *tierexperimentellen Untersuchungen mit Bezug auf immunologische Eigenschaften der rattentransplantablen Tumoren* haben gezeigt, daß unter vorliegender Versuchsanordnung eine sensibilisierende Wirkung der transplantablen Malignome nicht erfolgt ist. Dies wird u. a. durch die Tatsache bewiesen, daß weder mit dem Homogenat des transplantierten Tumors, noch mit einem im Heterosensibilisierungsversuch gewonnenen Anti-Tumorserum, noch mit einem Anti-DNS-Serum eine merkliche Beeinflussung des Tumorwachstums erzielt werden konnte.

Erfolgreich – oder wenigstens mit einem beachtlichen Teilerfolg – waren die Versuche an tumortragenden Ratten, welche ein Zweittransplantat aus einer Gruppe von Tieren eines anderen Zuchtstammes inokuliert bekamen. Hier kam es zu einer Abstoßung oder Einschmelzung sowohl des Zweittransplantats als auch des Ersttransplantats.

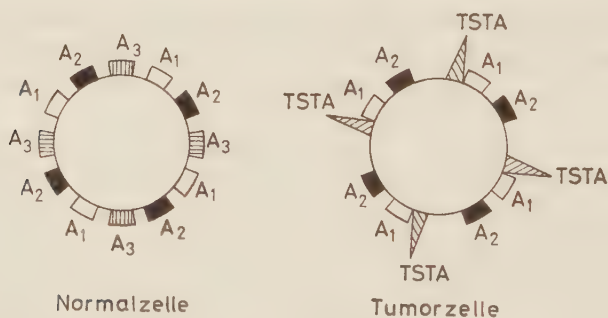
Die Versuchsergebnisse wurden, unter Berücksichtigung des einschlägigen Schrifttums, diskutiert.

3. Tumorspezifische Transplantationsantigene: TSTA

3.1 Derzeitiger Wissensstand

3.1.1 Einführendes

Experimentelle sowie klinische Untersuchungsergebnisse auf dem Gebiet der Immunonkologie [3, 7, 16–17, 23c, d; 36–38a; 40, 45, 50–54, 57, 59, 61–62, 68a, b, c; 72b; 75, 80–84a; 85, 90a, b; 91–92, 98, 108–111, 113 bis 117, 124, 128–129] haben zu der Erkenntnis geführt, daß die Entwicklung maligner Tumorzellen einerseits mit dem *Verlust an physiologischen Zellantigenen* [6, 8–9, 15, 87, 120–122], andererseits mit dem *Neuaufreten tumorspezifischer Antigene* [32, 35, 69a, b; 70a, 120–121, 130] einhergeht. Diese tumorspezifischen Antigene sind ihrem Wesen nach Transplantationsantigene; sie werden deshalb als „tumor specific transplantation antigens = TSTA“ bezeichnet (vergl. auch Abb. 16, 17). Diese TSTA bewirken mit



- A — Antigene sowie TSTA sind Zell-membran-antigene
 A₁ = Speziesspezifische Antigene
 A₂ = individualspezifische Antigene
 A₃ = gewebespezifische Antigene
 TSTA = „tumor specific transplantation antigens“

Abb. 16 Schema der Oberflächen-Antigenqualitäten einer normalen Körperzelle (links) und einer Tumorzelle (rechts).

Bezug auf das immunologisch kompetente System (ICS) eines tumor-befallenen Organismus eine allergische Reaktion vom Spätreaktionstyp.

Dabei werden *Lymphozyten* einer bestimmten Zellpopulation *tumorspezifisch sensibilisiert*. Diese sensibilisierten Lymphozyten sind prinzipiell in der Lage, bei Kontakt mit entsprechenden Tumorzellmembranen eine Transplantatabstoßungsreaktion in Gang zu bringen. Darüber hinaus werden gegen die TST-Antigene verschiedenartige *molekulare Antikörper* gebildet, die bei

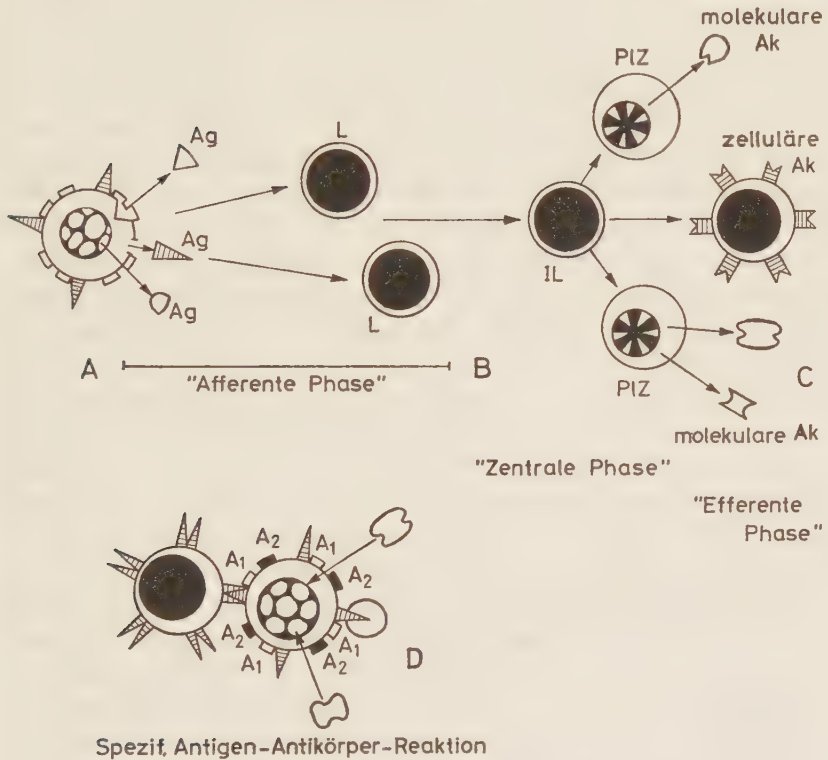


Abb. 17 Schema zur Sensibilisierung eines Organismus bzw. dessen immunologisch kompetenten Zellsystems durch Tumorzellantigene, und zwar sowohl durch Zellmembran- als auch durch Zytoplasma-Antigene.

A Tumorzelle mit zellgebundenen sowie mit von der Zelle gelösten Antigen-faktoren

A B = "Afferente Phase" des spezifischen Immunisierungsvorganges

B Lymphozyten des Wirtsorganismus in der „zentralen Phase“ des spezifischen Immunisierungsvorganges

C Endprodukte des spezifischen Immunisierungsvorganges in der „efferenten Phase“: zelluläre sowie molekulare Antikörper

D Antigen-Antikörper-Reaktionen

Kontakt mit der Tumorzelle unterschiedliche Reaktionen auszulösen vermögen: Zytotoxizität, Agglutination, Präzipitation sowie Blockierung bzw. Neutralisierung der TST-Antigene.

Tumorzellen besitzen aller Wahrscheinlichkeit nach, neben membran- gebundenen TST-Antigenen *zytoplasmatische* und *nukleäre Antigene*. Man könnte sie in Analogie zu den TSTA als „tumor specific cytoplasmatic antigens = TSCA“ resp. als „tumor specific nuclear antigens = TSNA“ benennen. Dabei kann es sich sowohl um sogenannte Primärantigene, d. h. durch genetische Information geprägte Antigene, als auch um sekundäre oder um Pseudoantigene, etwa vom Typ der Nekroseantigene, handeln (s. u.). Gegen sie werden im wesentlichen molekulare Antikörper gebildet, deren Wirkungsmechanismus bis heute noch nicht aufgeklärt ist. Es bestehen Anhaltspunkte dafür, daß u.a. präzipitierende Antikörper gegen diese Zytoplasma- und Kernfaktoren gebildet werden [41], die über eine Immunkomplexbildung zu klinischen Äquivalenten führen können, wie sie bei einer Gruppe von Autoimmunopathien angetroffen werden: Immunkomplexvasculitis, Lupus erythematodes disseminatus, Autoimmun-nephritis u. a. m.

Die malignen Tumoren des Menschen imponieren im weitaus größten Prozentsatz als Spontantumoren, wiewohl genügend Anhaltspunkte gegeben sind, daß auch beim Menschen eine Carcinom- oder Sarkomentwicklung durch Einwirkung definierter chemischer Substanzen oder onkogener Viren induziert werden kann. Man denke an Carcinome der Bronchialschleimhaut, der Kehlkopf-, der Oesophagus- oder der Blasenschleimhaut sowie an Hautcarcinome, die etwa durch den Kontakt mit Teerstoffen, Benzolderivaten, Farben, Arzneistoffe oder Zytostatika hervorgerufen bzw. in ihrer Entwicklung begünstigt worden sind; man denke an Leukämien, das Mamma-Carcinom, an Lymphome einschließlich des BURKITT-Tumors, bei welchen heute die Verursachung durch Viren ernstlich diskutiert wird. Es darf als gesichert gelten, daß auch Spontantumoren eine sensibilisierende Wirkung auf den Trägerorganismus entfalten, und daß von einem solchen Organismus sowohl spezifisch sensibilisierte Lymphozyten als auch molekulare Antikörper gegen TST- sowie gegen TSC- und wohl auch gegen TSN-Antigene gebildet werden [13, 23c, 30, 33, 38b, 52, 54]. Stützt man sich auf diese Erfahrungstatsachen, so überrascht es, daß der Mensch in einem relativ hohen Prozentsatz seine malignen Tumorzellen dennoch scheinbar toleriert. Das wird heute damit erklärt, daß die Membranantigene einer Tumorzelle in den meisten Fällen eine Reduzierung erfahren haben, und daß die neuentwickelten TST-Antigene bei Spontantumoren

als „schwache Antigene“ imponieren, die nur eine geringe Induktionskraft zu einer spezifischen Antikörperbildung besitzen. Hinzu kommt, daß in jedem Fall des zunächst unbehandelten Tumors durch das unkontrollierte Wachstum die dadurch gegebene Antigenentwicklung in Diskrepanz mit den sensibilisierten immunkompetenten Zellen steht. Der Vorsprung des antigenen Materials ist bereits durch die Initialphase der spezifischen Antikörper (= Immunzell-)Bildung gegeben, die immerhin 8 bis 12 Tage in Anspruch nimmt, ehe die ersten Auswirkungen einer aktiven immunologischen Reaktivität offenbar werden. Die vielfach schlechte Vaskularisation von Tumoren – dies betrifft vor allem Solitärtumoren – bringt es außerdem mit sich, daß tumorspezifisch sensibilisierte Lymphozyten u.U. gar nicht oder nur ungenügend an die Zielzellen des Tumors herankommen können. Der Antigenexzess kann weiterhin seinerseits dazu beitragen, eine *Immuntoleranz* im betroffenen Organismus hervorzurufen. Ferner ist zu bemerken, daß häufig genug nach klinischer Diagnose eines malignen Tumors durch intensive zytostatische oder Röntgenstrahlen-Behandlung antigenes Tumormaterial zwar zerstört und damit verringert, in jedem Falle aber auch die Produktion körpereigener Immunzellen und molekularer Antikörper behindert werden kann.

Darüber hinaus sind bei der Auseinandersetzung eines tumortragenden Organismus mit den Zellen seiner malignen Geschwulst verschiedene Immunphänomene zu bedenken, die im Gefolge einer Erstsensibilisierung durch einen Tumor in Gang gekommen sind. Sie können die ohnehin unterschwellige Antikörperbildung des Tumorträgers zum passageren oder völligen Erliegen bringen, worauf bereits in früheren Jahren SOUTHAM [116a], OLD und BOYSE [92], GRACE [45] sowie KOLDOVSKÝ [72a] aufmerksam gemacht haben. Auf diese Phänomene wird im weiteren Zusammenhang näher eingegangen werden.

Die Tumorentwicklung¹⁴ ist somit eine Frage der immunologischen Homöostase bzw. der Überwachung des Organismus durch das immunologisch kompetente System [23a, b] mit dem Ziel, autologen Proteinbestand, d.h. das „Selbst“, zu schützen und Fremdanigen, d.h. das „Nichtselbst“ vom Typ des xenogenen, allogenen und des fremd gewordenen autogenen Antigens, zu eliminieren. Ist die körpereigene immunologische Kontrolle gestört, d.h. abgelenkt oder insuffizient, so können Fremdanigene eine Toleranz induzieren. Diese Toleranz bleibt solange erhalten, solange der antigene Faktor im Exzeß vorliegt.

¹⁴ nicht die Tumorverursachung!

Im nachfolgenden sollen einige Begriffe und Wirkungsmechanismen, wie sie im Rahmen der wechselseitigen, immunologisch definierbaren Tumor-Wirt-Beziehungen nachweisbar werden, dargelegt werden.

3.1.2 Theorien zur Entstehung von Tumorantigenen

Das Studium tumorspezifischer Antigene, insbesondere tumorspezifischer Transplantationsantigene, war erst erfolgreich geworden mit der Einführung immunbiologischer Versuche an *Inzuchttieren* in die Immunonkologie. Erste Inzuchtstämme von Mäusen wurden zwar bereits 1901 zu Versuchszwecken gezüchtet, über Tumorverpflanzungen unter Inzuchttieren wurde aber erst 1931 von LUMSDEN [76] berichtet. Besondere Beachtung fanden danach die Versuchsanordnungen von GROSS 1943 [46a, 46b] an C3H-Inzuchtmäusen zum Studium Methylcholanthren-induzierter Tumoren und deren Antigene. Seitdem gelang es, unter Umgehung allogener Transplantatwirkungen, am Modell tumortragender Inzuchttiere (Mäuse, Hamster, Ratten) die TST-Antigene verschiedener maligner Tumoren zu studieren und zu charakterisieren.

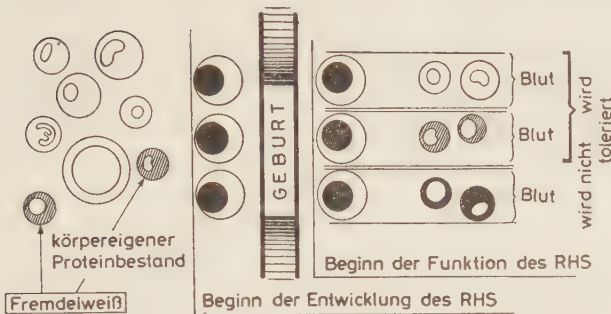
Für die Antigenentstehung an malignen Tumorzellen gilt im Prinzip das Gleiche wie für die Autoantigenentstehung normaler Wirtszellen (Abb. 18a, b; Tab. 2). Es können deshalb die immunologisch faßbaren Phänomene, die im Rahmen der Auseinandersetzungen zwischen einem Organismus mit seinem malignen Tumor in Erscheinung treten, mit denjenigen der Autoimmunopathien weitgehend verglichen und sogar identifiziert werden. Es liegt deshalb der Gedanke nahe, die malignen Tumor- und Systemerkrankungen in die große Gruppe der Autoimmunopathien mit einzuordnen.

Die Erfahrungen der experimentellen Tumorimmunologie haben zu folgender Gliederung der Tumorantigenentstehung geführt:

3.1.2.1 Entstehung primärer Tumorantigene

Man versteht darunter die Entstehung von Tumorantigenen durch *Transformation* (Mutation) oder *Alteration* des genetisch determinierten Zellmaterials mit dem Auftreten von *Neoantigenen*. Als verursachende Faktoren für diese Vorgänge können onkogene Viren, Carcinogene, Immunsuppressiva sowie Röntgenstrahlen in Frage kommen. Neoantigene wurden sowohl an Zellmembranen als auch an Zellkernen nachgewiesen (s. S. 78).

Immuntoleranz



Verlust der Immuntoleranz

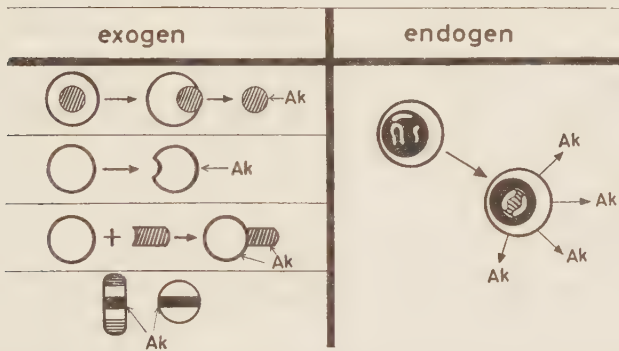
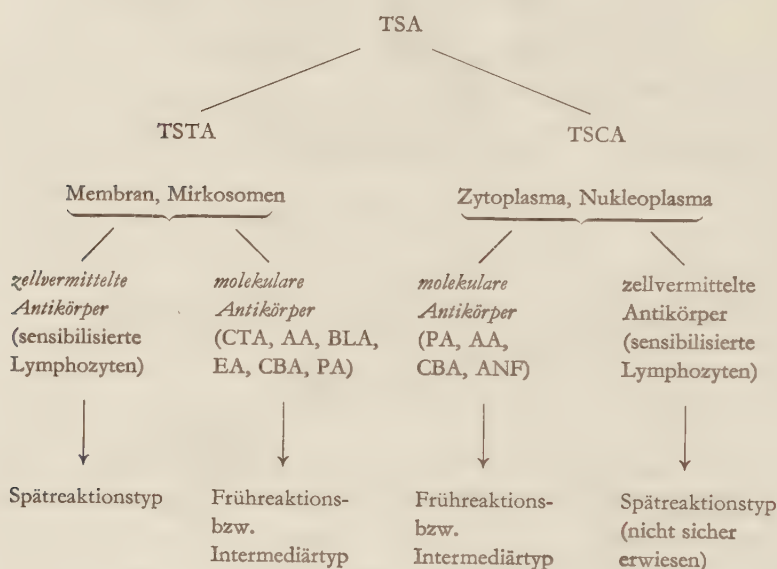


Abb. 18 Autoantigenentstehung. Versuch einer Darstellung zum Wesen der „Antigenisierung“ körpereigenen Proteinbestandes. Autoantigenentstehung ist so gut wie immer verknüpft mit dem Verlust der Immuntoleranz. Es ist deshalb in a) ein Schema zum Wesen der Immuntoleranz wiedergegeben: Alle vor dem Beginn der Entwicklung bzw. der Funktion des RHS in einem embryonalen Organismus vorhandenen oder eingebrachten Proteinsysteme werden vom ausgereiften immunologisch kompetenten System als „eigen“ akzeptiert und nicht durch Antikörperbildung attackiert (hell sowie grau gestrichelt symbolisierte Zellen). Zellen und Proteine, welche als „nicht eigen“ vom ICS erkannt werden, werden mit Antikörperbildung beantwortet.

In b) sind verschiedene Möglichkeiten aufgeführt, die zum Verlust der Immuntoleranz und damit zur Autoantigenisierung führen können. Unter den „exogen bedingten“ Möglichkeiten sollen in der ersten Zeile die Gruppe der sequestrierten Antigene sowie die der embryonalen Antigene, in der zweiten Zeile die durch Proteindefekte oder -verlust bedingten Autoantigene, in der dritten Zeile die durch Haptenisierung entstandenen Antigene und in der vierten Zeile die durch kreuzreagierende Antikörper zum Autoantigen gewordenen Faktoren veranschaulicht sein. Unter endogenem Verlust der Immuntoleranz versteht man den Verlust der Fähigkeit immunologisch kompetenter Zellen, den körpereigenen Proteinbestand als „eigen“ zu erkennen.

Darüber hinaus können primäre Tumorantigene durch *Deletion*, d.h. Verlust, Reduzierung oder Zerstörung physiologischer Antigene entstehen. Das gilt vorzugsweise für organspezifische Antigenfaktoren sowie für Blutgruppenrezeptoren, die verlustig gehen können. Die dabei neuentstandene



kursiv = pathophysiologisch von Bedeutung

Tab. 2. Möglichkeiten der Entwicklung tumorspezifischer Antikörper-Typen (und Reaktionstypen) in Abhängigkeit von verschiedenen Tumorzell-Antigenqualitäten.

TSA	= tumor specific antigens (neoantigens)
TSTA	= tumor specific transplantation antigens
TSCA	= tumor specific cellular antigens resp. tumor specific cytoplasmatic antigens
CTA	= cytotoxic antibodies
AA	= agglutinating antibodies
BLA	= blocking antibodies
EA	= enhancing antibodies
CBA	= complement binding antibodies
APA	= precipitating antibodies
ANF	= anti nuclear factors

Antigenkomposition der Tumorzellmembran wird vom ICS als „Nichtselbst“ empfunden.

Außerdem können im Rahmen einer Entdifferenzierung ehemals normaler Zellen über den Weg der *Antigenreversion* embryonale Antigene auftreten (Atavismus). Diese embryonalen Antigene werden, obwohl sie ehemals im Embryonalstadium desselben Organismus bereits vorgelegen haben, mit den ersten wenigen Wochen post partum jedoch verlustig gegangen sind, vom ICS ebenfalls als „Nichtselbst“ registriert.

Schließlich können TST-Antigene durch eine Art Antigenaustausch oder Ablenkung, *Diversion*, entstehen. Man versteht darunter die Eigentümlichkeit, daß z.B. beim primären Lebercarcinom ein leberspezifisches Antigen verlustig geht, dafür aber ein nierenspezifisches Antigen neu auftritt [in 106].

3.1.2.2 *Entstehung sekundärer Tumorantigene*

Sekundäre Tumorantigene entstehen durch die Kupplung bzw. Adsorption antigenen oder haptener Substanzen an die Tumorzellmembran. Voraussetzung hierfür ist, daß die Tumorzellmembran für entsprechende Antigene oder Haptene adsorptionsfähig (gemacht worden) ist. Als Beispiel gilt die Erfahrungstatsache, daß das BURKITT-Lymphom unter der Einwirkung von Chemotherapeutika offenbar „stärker antigen“ gemacht werden und vom tumortragenden Organismus abgestoßen werden kann. Außerdem wurde die Kupplung von Tumorzellen an Fremdfaktoren in der experimentellen Tumorimmunologie mit Erfolg angewandt: Kupplung von Tumorzellen mit xenogenen sowie mit allogenen Proteinen, mit Jodacetat, mit Aldehydgruppen sowie mit Knoblauchextrakt.

3.1.2.3 *Entstehung von Pseudotumorantigenen*

Der Begriff des Pseudotumorantigens besagt, daß hier, biochemisch gesehen, *keine* Neoantigene entstehen, sondern daß Zellfaktoren, welche in der der Tumorzelle zugrundeliegenden Normalzelle in nur geringer Konzentration oder geschützt enthalten waren, nunmehr *stärker angereichert* an der Tumorzelloberfläche in Erscheinung treten. Dies trifft z.B. für Glykolipoide mit Anreicherung von Neuraminsäure zu, wie sie als Gerüstbausteine in Normalzellen vorkommen. Dies kann aber auch durch eine Art *Umschichtung der topographischen Architektur* zwischen Membran und submembranösem Zellbereich erfolgen. Als Beispiel kann die Zelle des primären Leber-

zellcarcinoms angeführt werden, bei welcher es offenbar zu einer Anreicherung von neuraminsäurehaltigen Verbindungen an der Zelloberfläche und gleichzeitiger Änderung des Zetapotentials kommt [125].

Schließlich können Pseudotumorantigene durch die *Anreicherung von Stoffwechselprodukten* der Tumorzelle selbst sowie durch *Tumorzellnekrose* mit Freisetzung von Nekroseantigenen entstehen.

3.1.3 Spezielle Tumorantigene

3.1.3.1 *Antigene experimentell erzeugter Tumoren*

3.1.3.1.1 Antigene chemisch induzierter Tumoren

Unter den experimentell erzeugten Tumoren sind die Antigene der *chemisch* induzierten Tumoren durch ihre hohe Spezifität und durch ihre relativ stark sensibilisierende Eigenschaft ausgezeichnet [35, 95a, b; 96]. Die Ergebnisse der experimentellen Studien an solchen Tumoren können folgendermaßen zusammengefaßt werden: Exstirpiert man z.B. bei Inzuchttieren Methylcholanthren-induzierte Tumoren und transplantiert nach ca. 10 Tagen Tumorzellfiltrat eines ebenfalls durch Methylcholanthren induzierten Tumors anderer, genetisch jedoch identischer Mäuse auf die vorbehandelten Tiere, so werden diese Tumorzellen von den vorbehandelten Tieren nicht mehr angenommen. Es kommt aber bei denselben Mäusen zu erneuter Tumorentwicklung und Sensibilisierung, wenn ein anderer cancerogener chemischer Stoff verwendet wird; dabei genügen geringfügige Abweichungen in der chemischen Grundstruktur des neugewählten Präparates gegenüber dem ersteren. Die Antigenspezifität kann unter bestimmten Voraussetzungen sogar so streng sein, daß die durch das gleiche Cancerogen induzierten Tumoren verschiedener, jedoch genetisch identischer Tiere eine „individuelle“ Tumorspezifität zeigen, m.a.W., daß die von den verschiedenen Tieren gegen sie gebildeten Antikörper untereinander *nicht* kreuzreagieren. Es wurden sogar Beispiele bekannt, wonach die Applikation ein und derselben chemischen Verbindung an verschiedenen Stellen desselben Versuchstieres zu unterschiedlicher Antigenität der herangewachsenen Tumoren führte. Diese Beobachtungen sind bis heute nicht ganz ohne widersprüchliche Versuchsergebnisse geblieben: So konnte die Schule um HAŠEK [in 51] auch kreuzreagierende Tumoreigenschaften unter chemisch induzierten malignen Geschwülsten beobachten. Die große Mehrzahl der

experimentellen Erfahrungen spricht allerdings dennoch für die *starke Antigenität und hohe Spezifität* chemisch induzierter Tumoren.

3.1.3.1.2 Antigene durch onkogene Viren induzierter Tumoren

Die Antigene der durch *onkogene Viren* hervorgerufenen Tumoren besitzen zwar ebenfalls eine deutlich faßbare Antikörper-induzierende Fähigkeit, aber keine so hohe Spezifität wie die der chemisch induzierten Tumoren. Die Forschungsergebnisse aus dieser Gruppe können folgendermaßen dargestellt werden: Unter den onkogenen Viren unterscheidet man Desoxyribonucleinsäure-(DNS)-Viren und Ribonucleinsäure-(RNS)-Viren. Aus der Gruppe der DNS-Viren sind das Polyoma-Virus, das SV₄₀-Virus sowie das Adenovirus bekannt geworden, aus der Gruppe der RNS-Viren das Rous-Sarkom-Virus (RSV), das Mamma-Tumor-Virus (MTV), das Mamma-Leukämie-Virus (MLV), das Thymus-Leukämie-Virus (TLV), die Viren der Mäuse-Leukämien sowie das FRIEND-MOLONY-RAUSCHER-Virus (FMR-Virus). Jedes dieser Viren vermag bei geeigneter Versuchsanordnung in Tieren einen Tumor mit einer durch diese Viren geprägten Antigenität hervorzurufen. Die Antigenität virusinduzierter Tumoren wird damit bewiesen [46 a, b, c; 69 a, b; 70 a, 70 b], daß nach Exstirpation des Tumors das vormalig tumortragende Tier gegenüber weiteren Transplantaten mit gleichem Tumormaterial resistent geworden ist, d.h. das Angehen solcher Tumorzellen verhindert. Im Unterschied zu chemisch induzierten Tumoren besitzen jedoch die Antikörper virusinduzierter Tumoren eine *immunologische Kreuzreaktion mit allen Tumorantigenen, die durch das gleiche onkogene Virus hervorgerufen wurden*. Die in solchen Fällen nachweisbaren Transplantationsantigene der Tumoren verschiedener Individuen sind also untereinander identisch; sie unterscheiden sich aber von den sie verursachten Virusantigenen. Dies gilt sowohl für virusfreie Tumoren als auch für solche Tumoren, in welchen das Virus noch erhalten ist. HABEL [48] erklärt dies damit, daß ein onkogenes Virus normale Zellen zu Tumorzellen transformiert, wodurch ein neues, für den tumortragenden Organismus fremdes Antigen entsteht, das von nun an zwar an den Tumorzellen, nicht aber an den Viren nachgewiesen werden kann.

3.1.3.2 Antigene menschlicher Tumoren

Bei menschlichen Tumoren erfolgt der Nachweis sowie die Charakterisierung tumorspezifischer Antigene im wesentlichen durch den Nachweis der

korrespondierenden Antikörper. Zellvermittelte Immunität und/oder zirkulierende Antikörper gegen Zellmembran- wie auch gegen zytoplasmatische, mikrosomale und nukleäre Antigene wurden unter Verwendung verschiedener Techniken bei einer Reihe maligner Tumor- oder maligner Systemerkrankungen auch beim Menschen nachgewiesen: bei lymphatischen Systemerkrankungen, Lymphomen, Leukämien, Melanomen und Melanoblastomen, bei Sarkomen, Carcinomen des Verdauungstraktes, Bronchialcarcinomen, Ovarial- und Uteruscarcinomen, beim Retinoblastom, beim Mammacarcinom, beim Hypernephrom, Prostatacarcinom sowie beim Harnblasencarcinom.

An folgenden Tumoren haben sich besondere Antigene abgezeichnet:

3.1.3.2.1 BURKITT-Lymphom

Das *BURKITT-Lymphom* stellt eine aus primitiven Lymphozyten bestehende Geschwulst dar, die sich vorzugsweise an Knochen, insbesondere am Kiefer, niederschlägt. Der Tumor tritt in einer eigenartigen geographischen Verbreitung unter der afrikanischen Bevölkerung südlich der Sahara auf. Er befällt vorwiegend Kinder. Unter diesen Patienten waren zahlreiche dauerhafte Spontanremissionen aufgefallen. Außerdem gelingt es, in nahezu 100% der Patientenserien einen relativ spezifischen präzipitierenden Antikörper, ferner Anti-Membran- sowie Anti-Zytoplasma-Antikörper nachzuweisen [in 21, 22]. Diese Antikörper, insbesondere die präzipitierenden Antikörper, zeigen Kreuzreaktionen mit einem Serumfaktor bei Patienten mit akuten Leukämien, mit Carcinom des Nasen-Rachenraumes, einigen anderen Carcinomen, und in einem kleinen Prozentsatz sogar mit einem Plasmaprotein klinisch Gesunder [89]. Weiterhin konnten bei Patienten mit BURKITT-Tumor unter Verwendung autologen Tumorzellfiltrats positive Hautreaktionen vom Spätreaktionstyp ausgelöst werden; dies allerdings erst in der Remissionsphase.

Eine andere Besonderheit wurde bei Behandlungsversuchen von BURKITT-Kranken wahrgenommen: Die Applikation alkylierender Substanzen in niedriger Dosierung bewirkt in einer ungewöhnlich hohen Zahl tumorbefallener Patienten eine Remission, vielfach sogar eine Dauerheilung. Ungeachtet des tumorverursachenden Agens – es wird ein Virus diskutiert – scheint das zugeführte Zytostatikum im Sinne einer Haptenisierung der Lymphomzellen und damit zugleich einer Verstärkung der tumorspezifischen Antigenität zu wirken. Als Folge dieses Vorganges darf eine Aktivierung des bereits vorhandenen, tumorspezifisch sensibilisierten Lympho-

zytenbestandes angenommen werden: es kommt somit zur erfolgreichen „Transplantatabstoßung“.

Bei *anderen lymphomatischen Systemerkrankungen*, insbesondere beim *HODGKIN-Sarkom*, sind entsprechende Beobachtungen nicht übereinstimmend gemacht worden, wiewohl auch hier Anhaltspunkte für Tumorantigenität und für die Existenz zellvermittelter sowie molekularer Antikörper gegeben sind [in 47, 67]. Bei dieser Erkrankung wurden vor allem Beziehungen zwischen Antikörpernachweis (Allergie) und Remission bzw. Fehlen von Antikörpern (Anergie) und Rezidiv herausgestellt.

Von einigen Autoren wird heute die Ansicht vertreten, daß systemisch auftretende maligne Prozesse des lymphatischen Apparates keine Antigenität entwickeln würden, sondern eher im Sinne einer graft-versus-host-Reaktion wirksam werden [85]. Beweis und/oder Gegenbeweis für diese Auffassung, die keinesfalls abwegig erscheint, stehen jedoch noch aus.

3.1.3.2.2 Leukämien

Bei Leukämien wurden sowohl zellvermittelte als auch molekulare Antikörper gegen TST-Antigene nachgewiesen [46, 67, 85]. Somit besteht also kein Zweifel an der Existenz Leukämiezell-spezifischer Antigene. Dies wird u. a. dadurch erhärtet, daß in rund 10% der Fälle Spontanremissionen bzw. Dauerheilungen nach initialer Therapie nachweisbar werden [20, 78, 112]. Humorale Antikörper zeigen Kreuzreaktionen mit dem RAUSCHER-Virus-Antigen sowie mit dem BURKITT-Tumorantigen, ein Anhaltspunkt dafür, daß bei Leukämien Viren als verursachende Faktoren sehr wohl in Frage kommen können.

3.1.3.2.3 Melanom

Auch hier wurde durch zahlreiche Publikationen der Nachweis sowohl zellvermittelter [31, 84] als auch molekularer Antikörper belegt. Im Verhältnis zu diesen Befunden sind die beobachteten Spontanremissionen ungleich geringer. Das wird mit der Erfahrungstatsache erklärt, daß Reaktionen vom Spätreaktionstyp erst ein bis drei Wochen nach erfolgter Entfernung des Primärtumors faßbar werden. Möglicherweise wurde hier die Bildung und Vermehrung spezifisch sensibilisierter Lymphozyten infolge Maskierung der Melanom-Membranantigene durch blockierende bzw. „enhancing“ Antikörper oder durch Immunparalyse (Antigenexzeß!) verhindert. Antikörper gegen Zytoplasmafaktoren der Melanomzellen zeigen Kreuzreaktionen mit Zytoplasmafraktionen von Melanom-Allopräparaten.

3.1.3.2.4 Intestinale Carcinome

Bei Carcinomen des Magens und insbesondere des Colons, aber auch der Leber und des Pankreas finden sich neben präzipitierenden Antikörpern gegen Zytoplasma-, Mikrosomen/Mitochondrien- sowie gegen Nucleoplasmafraktionen, humoral und immunhistochemisch faßbare embryonale Antigene, sogenannte *carcinoembryonale Antigene* = CEA [42, 73, 123]. Sie gehören nach ALEXANDER [2] am ehesten der großen Gruppe der assoziierten *onko-foetalen Antigene* (OFA-associated) an. CE-Antigene wurden vor allem von der Forschergruppe um GOLD [42] aufgedeckt und näher charakterisiert. Nachuntersucher haben zwar die Tumorspezifität dieser Antigene nicht völlig bestätigen können [24–25, 71], ihre Bedeutung als Indikatorfaktoren dürfte aber außer Zweifel stehen.

Darüber hinaus finden sich bei malignen Prozessen der Schleimhäute des Verdauungstraktes sowie der großen Drüsen spezifische Foetoproteine mit der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit von α - und γ -Globulinen. Diese werden entweder der Gruppe der spezifischen OFA oder der der assoziierten OFA zugeordnet.

Das α_1 -Foetoprotein (αF) wurde 1963 von ABELEV [1] bei Hepatomtragenden Ratten entdeckt. Beim primären Leberzellcarcinom des Menschen wurde es bis heute in 30–80% der untersuchten Fälle ebenfalls nachgewiesen [127]. Normalerweise kommt das αF als Syntheseprodukt perivaskulärer Parenchymzellen der foetalen Leber vor [10]. Es wird im Nabelschnurvenenblut und außerdem bis zu einigen Wochen post partum im Säuglingsserum physiologischerweise noch gefunden. Außer beim primären Leberzellcarcinom wurde das αF bei Teratoblastom, bei Ovarialcystom, sowie beim Magencarcinom mit und ohne faßbare Lebermetastasen¹⁵ nachgewiesen.

Ein weiteres Foetoprotein, das α_2H -Ferroprotein, das, streng genommen, eher einem β -Protein entspricht, wurde von BUFFE und Mitarb. [19] entdeckt. Es wird ebenfalls in der foetalen Leber gebildet und wird bei den verschiedensten frühkindlichen malignen Tumoren – aber nicht embryonalen Tumoren! – in 81% der Fälle nachgewiesen. Physiologischerweise kommt es nur bis zum 2. Lebensmonat vor. Dieses α_2H -Ferroprotein scheint weit weniger spezifisch als α -Foetoprotein zu sein.

Das γ -Foetoprotein kommt ebenfalls bei einer großen Zahl der verschiedensten malignen Tumoren, wie Sarkomen, Carcinomen, einschließlich des Mamma-Carcinoms und einiger Formen von Leukämien, vor. Dieses γF

¹⁵ eigene Beobachtungen an je einem Patienten mit Magencarcinom.

unterscheidet sich chemisch sowie immunologisch sowohl vom α F als auch von den CEA und selbstverständlich auch vom α_2 H. Es gehört wahrscheinlich der Gruppe der „OFA-associated“ an [2].

Weiterhin wurde ein foetales *Sulphoglycoprotein* im Magensaft, in der Magenschleimhaut [49a, b] sowie in der Colonschleimhaut [12, 86] bei Patienten mit Magencarcinom und Coloncariomen, in einem kleinen Prozentsatz allerdings auch bei klinisch Gesunden gefunden.

Außer den genannten präzipitierenden Antikörpern und den verschiedenen Foetoproteinen wurden bei malignen Prozessen des Verdauungstraktes auch Immunphänomene vom Typ der Spätreaktion nachgewiesen [55–56, 58, 101, 118].

3.1.3.2.5 Mamma-Carcinom

Humorale sowie zelluläre Antikörper wurden auch beim Mamma-Carcinom aufgedeckt [4, 84b, 101, 118]. Sie beweisen die Existenz einer tumorspezifischen Antigenität. Besondere Beachtung wurde hier vor allem dem Verhalten der durch Probeexzision beurteilbaren peritumoralen mononukleären Zellreaktion geschenkt. Bei Vorhandensein einer solchen würde eine gute Prognose nach Exstirpation des Primärtumors zu erwarten sein. Bei Fehlen oder nur gering ausgeprägter peritumoraler Reaktion bestünde die Gefahr der Metastasierung. Möglicherweise ergeben sich aus solchen Befunden Konsequenzen für die Ausdehnung der Operation und die Nachbehandlung.

3.1.3.2.6 Chorionepitheliom (Choriocarcinom)

Das Chorionepitheliom tritt als maligne Geschwulst des plazentaren Chorionepithels auf. Hier ergibt sich die Besonderheit, daß Transplantationsantigene (Alloantigene) des Ehemannes wirksam werden. Normalerweise werden von der Frau etwa während einer Schwangerschaft blockierende bzw. „enhancing“ Antikörper gebildet, welche die Alloantigene zu maskieren vermögen. Der Nachweis solcher Antikörper erfolgt im Agglutinationstest der Leukozyten des Ehemannes durch das Serum seiner Ehefrau. Patientinnen mit Chorionepitheliom, die Alloantikörper besitzen, haben eine weitaus geringere Chance einer Spontanremission, während Frauen ohne Alloantikörper ihren Tumor „abzustoßen“ vermögen [14, 66, 77, 99]. Eine weitere Besonderheit des Choriocarcinoms liegt darin, daß es – ähnlich wie der BURKITT-Tumor – durch niedrige Dosen von Antimetaboliten,

etwa des Amethopterins, in einem hohen Prozentsatz zur Rückentwicklung gezwungen werden kann. Wahrscheinlich kommt es auch hier durch das Einführen eines Chemotherapeutikums zu einer Art Haptenisierung der Chorionepithelzellen mit Verstärkung der Membranantigenität. Bei intaktem immunologischem System kann es unter solchen Voraussetzungen zu dauerhaften Remissionen kommen.

3.1.3.2.7 Bronchialcarcinom

Bei Bronchialcarcinomen konnte ein Foetoprotein mit der Eigenschaft der alkalischen Phosphatase nachgewiesen werden. Nach dem Namen des ersten Patienten, bei welchem dieser Plasmaproteinfaktor aufgedeckt werden konnte, wird es als „REGAN-Isoenzym“ bezeichnet [34, 119]. Außer beim Bronchialcarcinom kommt dieses Foetoprotein aber auch in etwa 4% der Seren anderer, recht verschiedener Carcinome vor. Unter physiologischen Bedingungen wird das REGAN-Isoenzym in der Plazenta sowie im Serum schwangerer Frauen nachgewiesen.

3.1.3.2.8 GRAWITZ-Tumor (Hypernephrom)

Beim Hypernephrom wurden relativ hohe Quoten einer spontanen Rückbildung beobachtet [14, 29], ein Beweis dafür, daß körpereigene, immunologisch definierbare Kräfte mobilisiert werden, und dies durch eine starke und tumorspezifische Antigenität. Es wurden in der Tat auch entsprechende Immunphänomene nachgewiesen. Darüber hinaus ergibt sich beim GRAWITZ-Tumor mit bereits nachweisbaren Lungenmetastasen die Eigentümlichkeit, daß sich mit der operativen Entfernung des Primärtumors die Metastasen in den meisten Fällen spontan und dauerhaft zurückbilden [79]. Das gilt allerdings nach den Feststellungen von JAKOUBKOVÁ und Mitarb. [65] nicht für das Verhalten von Knochenmetastasen; sie werden durch die Operation der Primärgeschwulst offenbar nicht beeinflußt.

3.1.3.2.9 Prostata-Carcinom

Beim metastasierenden Prostata-Carcinom zeigt sich ein ganz ähnliches Verhalten der Metastasen wie beim Hypernephrom mit Lungenmetastasen: nach Behandlung des Primärtumors mit kryochirurgischen Maßnahmen kommt es in einem relativ hohen Prozentsatz zu deren spontaner Rückbildung. Hier bieten sich folgende Interpretationsmöglichkeiten an: Entweder kommt es zu einer Verringerung des antigenen Materials und damit

zu einer Aufhebung der Immunparalyse mit aktiver Sensibilisierung des Organismus, oder es wird durch die kryochirurgische Behandlung eine Alteration der Membranantigene des Tumors mit Verstärkung der Antigenität dieser TSTA bewirkt. In jedem Falle ist eine „Transplantatabstoßungsreaktion“, die hier speziell gegen die Metastasen gerichtet ist, zu erwarten.

3.1.3.2.10 Harnblasencarcinom

Von BUBENÍK und Mitarb. [18] konnten auch beim Harnblasencarcinom Antikörper gegen Tumorantigene nachgewiesen werden. Unter therapeutischen Maßnahmen (lokale Behandlung) kam es in den beobachteten Fällen u. a. zu einem Anstieg der gefundenen Antikörper-Titer.

3.1.4 Techniken zum Nachweis tumorspezifischer Antikörper und Antigene

3.1.4.1 *Methoden zum Nachweis tumorspezifisch sensibilisierter Lymphozyten*

Mixed lymphocyte tumor cell culture-Test (MLTC-Test): Tumorzellen werden in verschiedenen Verdünnungen (mehrere Ansätze) mit einer konstanten Zahl sensibilisierter Lymphozyten kultiviert. Nach Inkubation wird die DNS-Syntheserate der aktivierten Lymphozyten bzw. die Lysisrate der Tumorzellen gemessen. Der Test ist mit autologen wie auch mit homologen (allogenen) Lymphozyten angezeigt.

MLTC-Test als Plaque-Technik: Im Prinzip gleicher Ansatz wie oben: Mischung von Tumorzellen mit sensibilisierten Lymphozyten mit 0,5 proz. Agarose in Eagle's Medium. Ausstrich auf Objektträgern. Kultivierung. Registriert werden die Lysis-Phänomene.

Colony inhibition-Test (CI-Test): Tumorzellen werden mit spezifisch sensibilisierten Lymphozyten gemischt und in Petrischalen inkubiert. Es wird die Zahl der sich ausbildenden Tumorzell-Kolonien festgestellt; sie ist umgekehrt proportional der Zytotoxizität der zugemischten Lymphozyten. Die Relation wird an einem Vergleichssystem mit nichtsensibilisierten Lymphozyten gemessen.

Lymphozyten-Transformations-Test (LT-Test): Sensibilisierte Patienten-Lymphozyten werden einerseits mit Phythämagglutinin, andererseits mit dem Homogenat des autologen Tumors (in welchem möglichst auch gelöste Membranantigene enthalten sein sollen), inkubiert. Gemessen wird die Zahl der zu „blastoiden“ Zellen transformierten Lymphozyten in Prozenten oder die DNS-Syntheserate in den aktivierten Lymphozyten.

Hauttestungen: Mit Hauttestungen mit dem Äquivalent einer Reaktion vom „delayed hypersensitivity“-Typ können zwei Grundfragen aufgeklärt werden: erstens die Frage nach der allgemeinen Beschaffenheit des immunologisch kompetenten Systems, insbesondere der T-Zellen¹⁶, und zweitens die Frage nach einer spezifischen Sensibilisierung mit Tumorantigen. Als Testsubstanzen werden Tuberkulin, Trychophyton, Histoplasmin, Coccioidin, Blastomycin, Candida albicans, Mumpsviren, Typhusvaccine, Brucellenvaccine, Streptokokkenaufschwemmungen, Staphylokokkenextrakte (zum Nachweis der Immunzellreaktivität im allgemeinen) sowie autologes Tumorzellfiltrat bzw. Tumorphomogenat, in Einzelfällen sogar Tumor-Allotransplantate (zum Nachweis tumorspezifischer Immunzellreaktivität) verwandt.

Makrophagen-Inhibitions-Test (MPI-Test): Dieser Test, der, streng genommen, Makrophagenmigrationshemmtest heißen muß, gehört deshalb zur Gruppe der Nachweisreaktionen sensibilisierter Lymphozyten, weil das entscheidende Phänomen, die Migrationshemmung durch einen Faktor aus sensibilisierten Lymphozyten hervorgerufen wird. Dieser Faktor, „migration inhibition factor = MIF“ genannt, wird aus Immunozyten bei Kontakt mit spezifischem Antigen freigesetzt.

3.1.4.2 Methoden zum Nachweis tumorspezifischer oder tumorassoziierter, molekularer Antikörper

Zytotoxizitäts-Test: Autologe sowie homologe, kurzfristig kultivierte Tumorzellen werden mit Patientenserum oder isoliertem γ -Globulin des Patientensersums inkubiert. Gemessen wird der Grad der Tumorzell-Lyse. Dieser Test ist im freien Medium oder im Agarosegel ausführbar. Nachgewiesen werden zytotoxische Antikörper gegen TST-Antigene.

¹⁶ T-Zellen sind thymus-abhängige, immunologisch kompetente Zellen, im wesentlichen Lymphozyten.

Eine Modifikation dieses Zytotoxizitätstests ist darin gegeben, daß entweder Isotope, z.B. Cr^{51} , oder Fluoreszenzfarbstoffe in die Tumorzellen eingeführt werden. Nach erfolgter Reaktion mit spezifischem Antikörper kommt es über eine Membranschädigung der Tumorzellen zur Freigabe der inkorporierten Markierungssubstanzen. Die Aktivität bzw. Intensität dieser Substanzen ist bei Vergleich mit einem Normalsystem ein Maß für die Zytotoxizität des Patientenserums.

Komplementbindungsreaktion (KBR): Eine Verdünnungsreihe des Patientenserums oder isolierten γ -Globulins wird mit einem konstanten Volumen eines definierten hämolytischen Systems versetzt, mit Meer-schweinchen- oder Kaninchen-Komplement beschickt und anschließend mit autologem sowie homologem Tumorzellhomogenat inkubiert. In jedem Falle sollte darüber hinaus je eine Probe Patientenserums in gleicher Konzentration mit den Verdünnungsstufen des Tumorphomogenats angesetzt werden.

Hämolyse = negatives Ergebnis, keine Hämolyse = positiver Befund.

Nachweis komplementverbrauchender Antikörper.

Passive Hämagglutinationsreaktion (BOYDEN-Technik): Diese Testung erfolgt unter Verwendung Tumorphomogenat-beladener O-Erythrozyten und autologen Serums. Hämagglutination = positives Ergebnis.

Nachweis agglutinierender, kompletter Antikörper.

Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion (OUCHTERLONY): In einem Agar- oder Agarosegel werden Patientenserum und autologes oder homologes Tumorphomogenat bzw. eine extrahierte Tumorfraction so aufgetragen, daß beide Reaktionspartner gegenseitig diffundieren können. Bei Kontakt von Antigen und Antikörper entsteht ein unlösliches Immunpräzipitat. Es empfiehlt sich, den Test sowohl mit Verdünnungen des Patientenserums gegen eine konstante Tumorantigenkonzentration als auch mit Verdünnungen des Antigens gegen eine konstante Patientenserumkonzentration anzusetzen. Beurteilt werden Zahl und Intensität entstandener Präzipitationslinien.

Nachweis präzipitierender Antikörper.

Fluoreszenzimmunologischer Nachweis zirkulierender Antikörper:

Es handelt sich hier um Nachweisreaktionen zirkulierender Antikörper gegen Membranantigene, subzelluläre Fraktionen vom Typ der Mikrosomen- und Mitochondrienantigene sowie gegen nukleäre Antigene.

Indirekte Methode: Gefrierschnitte aus Punktions- oder Exzisionsgeweben werden mit autologem und/oder homologem Patientenserum überschichtet und inkubiert und anschließend mit fluoreszenzmarkierten Antisera gegen die Immunglobulin-Klassen IgG, IgA, IgM, IgD und nach Möglichkeit mit IgE ebenfalls zur Reaktion gebracht. Beurteilt wird die zytotopographische Fluoreszenz.

Direkte Methode: Gefrierschnitte werden mit fluoreszenzmarkiertem, autologem oder homologem Patientenserum bzw. isoliertem γ -Globulin inkubiert. Beurteilt wird auch hier die zytotopographische Fluoreszenz.

3.1.4.3 Methoden zum Nachweis tumorspezifischer Antigene

Im Prinzip sind die vorgenannten Techniken zum Nachweis tumorspezifischer Antikörper zugleich Tumorantigen-Nachweisreaktionen, da ja die Existenz spezifischer Antikörper eine spezifische Antigenwirkung voraussetzt. In diesem Abschnitt sollen jedoch einige Beispiele angeführt werden, in welchen exakt definierbare Antigene zur Darstellung gebracht werden können.

Hämasorptions-Techniken: Virusinduzierte Tumoren haben die Eigenschaft, sich relativ stabil mit Erythrozyten im Sinne der Hämasorption zu kombinieren. Verantwortlich für diese Reaktion sind Membranantigene der Tumorzelle, die in Normalzellen nicht vorhanden sind. Der Test ist infolgedessen vor allem zur differentialdiagnostischen Klärung von malignen und benignen Gewebezellen geeignet.

Zytotoxizitäts-Teste (s. o.): Sie sind vor allem zum Nachweis membran-spezifischer Alloantigene (Chorionepitheliom) indiziert.

Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion (s. o.): Sie wird heute zum Nachweis der Foetoproteine angewandt. Handelsübliche Antisera stehen insbesondere zur Darstellung des α_1 -Foetoproteins (α F) zur Verfügung.

Gegenstrom-(Überwanderungs-) Elektrophorese: Sie ist geeignet zum Nachweis von Antigenen mit der Wanderungsgeschwindigkeit von α -Globulinen. Im Prinzip wandert hier z.B. ein α -Foetoprotein unter dem Einfluß der Elektrophorese in den endosmotisch entgegenströmenden Bereich eines Anti- α F-haltigen γ -Globulins. An den Berührungsstellen von Antigen und Antikörper kommt es zur Ausbildung eines spezifischen Immunpräzi-

pitats. Der Test hat gegenüber der Immundiffusionstechnik den Vorteil, daß das Ergebnis im Idealfalle, d.h. bei Anwendung einer Mikromethode, bereits nach 10 Minuten abgelesen werden kann. Die Immundiffusion nimmt demgegenüber bis zu 16 Stunden in Anspruch.

3.1.5 Faktoren und Wirkungsmechanismen, welche die Antigenität von TSTA zu blockieren oder zu ändern vermögen

3.1.5.1 *Immuntoleranz*

Primäre Immuntoleranz (angeborene IT): Im Experiment konnte gezeigt werden, daß z.B. die Übertragung von onkogenen Viren auf neugeborene Mäuse durch die Muttermilch des infizierten Muttertieres bei späterem erneuten Kontakt mit denselben Viren das ungehinderte Angehen virus-induzierter Tumoren ermöglicht. In dem Neugeborenenorganismus wird das Virusantigen toleriert, da zu diesem Zeitpunkt das eigene ICS seine spezifische Funktion der Antigenerkennung und -Attackierung noch nicht aufgenommen hat. Ein wiederholter Kontakt mit demselben Virus wird infolge der bestehenden Toleranz also nicht beantwortet. Dieses, ehemals von BIRTNER [11 a, b] erstellte Modell wurde in der Folgezeit an anderen Systemen mit Erfolg imitiert [in 113].

Sekundäre Immuntoleranz (acquirierte IT, Immunparalyse): Auch im Erwachsenen-Alter kann Immuntoleranz erworben werden. Dies geschieht entweder durch „zu schwache“ Antigenität¹⁷ oder durch große Mengen Antigens (Antigenexzeß), wobei im einen Fall das ICS noch nicht oder unterschwellig, im anderen Fall zu stark stimuliert, gleichsam überannt wird. In keinem der genannten Beispiele kommt es zu einer Immunantwort. Diese Toleranz wird solange aufrechterhalten bis die Antigenkonzentration in die für das ICS physiologische Reizschwelle gelangt, sei es durch Hebung der Antigenmenge, sei es durch Reduzierung des antigenen Bestandes.

Für die Tumorummunologie kann beides zutreffen: Im Anfang einer Tumorentwicklung ist das ICS den schwachen TSTA ausgesetzt, mit Fortschreiten des Prozesses kommt es relativ rasch zum Antigenexzeß. Eine in einer Zwischenphase mögliche Antikörperbildung bzw. Immunzellentwicklung kann infolge anderer Immunmechanismen wirkungslos bleiben (s. u.).

¹⁷ bzw. sehr niedrige Antigendosis.

3.1.5.2 *Antigenmodulation*

Man versteht darunter eine Änderung von Tumorzellmembranantigenen durch eine Art Blockierung durch spezifische Antikörper (molekulare Antikörper). Unter der Voraussetzung, daß es mehrere TSTA-Typen gibt, hätte diese Blockierung eine Änderung der TSTA-*Qualität* zur Folge. Handelt es sich aber um gleichartige TST-Antigene, so wird dieser Vorgang zu einer *quantitativen* Änderung im Sinne der Antigenreduzierung führen. Die Tumorzelle stellt unter solchen Bedingungen die Neubildung von TST-Antigenen solange ein, solange die Antikörperproduktion anhält. Die Antigenmodulation kann sich sowohl an den Zellen des Primärtumors als auch an Zellen entsprechender Metastasen vollziehen. Sie kann allerdings auch insofern divergieren, als sie z. B. sehr wohl an den Zellen des Primärtumors, nicht aber an Zellen der Metastasen nachweisbar wird und umgekehrt.

3.1.5.3 *Immenselektion*

Die Übertragung eines Tumors auf spezifisch gegen TST-Antigene desselben Tumors sensibilisierte Tier führt zur Entwicklung von Tumoren mit verminderter Zahl an TST-Antigenen. Auch hier kann es dabei, ähnlich wie bei der Antigenmodulation, zu *qualitativen* und/oder zu *quantitativen* Änderungen des Antigenmusters kommen. Diese Verhaltensweise präimmunisierter Tiere wurde in der Grundlagenforschung zur Züchtung tiertransplantabler allogener oder sogar xenogener Tumoren genutzt. Die Passage von Tumorzellen durch immunisierte Tiere vermindert allerdings die Antigenität nur in bestimmten Tumorarten und außerdem nie komplett [70a].

3.1.5.4 *Enhancement*

Man versteht darunter die Blockierung oder „Maskierung“ membranspezifischer Tumorzellantigene durch tumorspezifische, vom eigenen Organismus gebildeter oder durch unspezifische, bereits vorhandener, kreuzreagierender Antikörper. Diese Antikörper sind molekulare Antikörper, die sich von zytotoxischen Antikörpern unterscheiden.

Dieses Phänomen des immunologischen Enhancement kann bereits in der Antigenerkennungsphase Bedeutung erlangen, wenn durch unspezifische, kreuzreagierende Antikörper die Blockierung erfolgt: der antigene Stimulus auf das ICS bleibt aus. Das Phänomen wirkt sich aber auch

ungünstig auf die Antigen-Antikörper-Reaktion aus, weil es die Antigen-Kontaktstellen für sensibilisierte Lymphozyten unangreifbar macht.

Enhancement kann sich sowohl auf membranspezifische Antigene als auch auf zytoplasmatische Faktoren der Tumorzelle beziehen.

3.1.5.5 *Sponge-Phänomen*

Dieses Phänomen, auch Antikörperneutralisationsphänomen genannt, offenbart sich darin, daß unspezifische Antigene, die entweder molekular oder an Tumorzellen gebunden vorkommen, spezifische Tumorantikörper zu neutralisieren vermögen. Auf diese Weise wird, trotz spezifischer Sensibilisierung, die entscheidende Erfolgsreaktion an den Zielzellen verhindert.

3.1.5.6 *Immuninsuffizienz*

Die Unfähigkeit, Fremdprotein zu erkennen und immunologisch zu attackieren kann angeboren und erworben sein. Sie kann außerdem partiell oder komplett sein, sie kann verschiedene immunologische Systeme in unterschiedlichem Grad betreffen. Dies alles kann im vorliegenden Rahmen nicht abgehandelt werden. Im nachfolgenden werden einige Beispiele herausgegriffen, die im Zusammenhang mit Tumorentwicklung Bedeutung erlangt haben.

3.1.5.6.1 Antikörpermangelsyndrom (AKMS)

Ein außergewöhnlich hohes Vorkommen von Spontantumoren und malignen Systemerkrankungen, vor allem des lymphatischen Apparates, wird bei Patienten mit AKMS wahrgenommen [7, 43, 113]. Dabei werden beide Typen des AKMS, d.h. sowohl die ausschließlich molekulare Form als auch der „Schweizer Typ“ mit Mangel an sensibilisierten Lymphozyten, angetroffen. Für eine Tumorentwicklung dürfte allerdings der Defekt zellulärer immunologischer Abwehrmechanismen entscheidend sein, während z. B. ein partielles AKMS mit ausschließlichen Defekt der molekularen Antikörperbildung u. U. sogar eine bessere Immunantwort auf TSTA ermöglicht, da die oben dargelegten „enhancing“ und neutralisierenden Faktoren wegfallen. Bei partiellem Defekt der T-Zellen, wie dies bei WISKOTT-ALDRICH-Syndrom, bei Ataxia teleangiectasia und bei AKM-Syndromen mit vorwiegendem IgM-Defekt wahrscheinlich ist, wurden vor allem lymphomatische Neoplasmen gesehen [94, 100].

Nicht völlig geklärt ist bei dem Zusammentreffen von Antikörpermangel und der Entwicklung maligner Tumoren oder Systemerkrankungen, die Frage, ob in jedem Falle der Antikörpermangel die Tumorentwicklung nach sich zieht oder ob auch bei bestehendem malignen Prozeß bei primär intaktem ICS ein Antikörpermangel resultieren kann. Man sollte beide Möglichkeiten diskutieren.

3.1.5.6.2 Thymektomie, Milzexstirpation

Das Experiment lehrt, daß es nach Entfernung des Thymus oder der Milz zu einem partiellen Antikörpermangel kommt. Nach entsprechenden Eingriffen konnte eine Häufung malignen Geschwulstwachstums beobachtet werden [26, 27, 89].

3.1.5.6.3 Immunsuppressive Therapie

Jedes Zytostatikum hat nach Auffassung von OPPELT [93] immunsuppressive Wirkung. Die Intensität dieser Wirkung unterscheidet sich aber von Präparat zu Präparat; sie ist außerdem abhängig von der Höhe der applizierten Dosis wie auch von der Dauer der Medikation. Eine Begünstigung einer Tumorentwicklung ist erfahrungsgemäß gegeben bei Langzeitbehandlung sowie bei zwar kurzer aber hochdosierter Therapie. Gefährdet sind deshalb Patienten mit Autoimmunopathien, die langfristig immunsuppressiv behandelt werden sowie Personen, die bereits an einer malignen Geschwulst oder Systemerkrankung leiden und ebenfalls zytostatisch behandelt werden. Gefährdet sind darüber hinaus Patienten mit Alлотransplantaten: Tumorzellen, die im Empfängerorganismus bislang unentdeckt geblieben sind, können sich unter der Immunsuppression wesentlich schneller weiterentwickeln als bei intaktem ICS. Die Praxis hat aber auch gezeigt, daß unbeachtet gebliebene Tumoren in Spenderorganen nach deren Transplantation im Empfängerorganismus rasch zur Ausbildung gelangen [60, 74, 85]. Immunsuppression wird nicht nur durch Zytostatika sondern auch durch Corticoide, Röntgenstrahlen-Behandlung und mit Wahrscheinlichkeit auch durch Viren [85] hervorgerufen.

Wenige Ausnahmen, darunter das Chorionepitheliom sowie das BURKITT-Lymphom, weisen darauf hin, daß Zytostatika in abgewogenen Dosen eine therapeutisch günstige Beeinflussung des Tumorwachstums mit Rückentwicklung der malignen Geschwulst und vielfach dauerhafter Heilung bewirken (s. auch S. 86, 87 und 89, 90).

Die Vorstellung, daß Zytostatika eine cancerogene Wirkung auf Normalzellen entfalten [107] kann für Einzelfälle seine Richtigkeit haben; es ist

aber eher anzunehmen, daß entsprechende Beobachtungen als Folgen einer Immunsuppression zu deuten sind.

3.1.5.6.4 Immuninsuffizienz mit zunehmendem Alter

Es entspricht einer hinreichend bekannten Erfahrungstatsache, daß sämtliche biologische Funktionen, unter ihnen auch die immunologischen Abwehrmechanismen, mit zunehmendem Alter physiologischerweise nachlassen. Als eines der eindrucksvollsten Beispiele für eine altersphysiologische Immuninsuffizienz sei die von SCANLON und Mitarbeitern [102] mitgeteilte Beobachtung erwähnt: Melanomzellen einer Patientin waren der 80jährigen Mutter dieser Kranken in der Absicht übertragen worden, spezifische Alloantikörper gegen die Melanomzellen zu induzieren, um diese dann der kranken Tochter verabreichen zu können. Die Mantoux-negative 80-Jährige akzeptierte jedoch die Melanomzellen und starb an den Folgen einer ausgedehnten Metastasierung. Andere Beispiele sind solche Krankheitsfälle, in welchen nach scheinbar erfolgreicher Tumorentfernung viele Jahre später, vielfach sogar erst im höheren Alter plötzlich Metastasen des vor Jahren operierten Primärtumors oder eine maligne Geschwulst anderer geweblicher Herkunft auftreten [44, 63]. Bekannt ist schließlich das gehäufte Auftreten bösartiger Tumoren oder Systemerkrankungen zwischen dem vierten und sechsten Lebensjahrzehnt. Dies wurde bei Mann und Frau bislang mit den hormonal bedingten Änderungen von Stoffwechsel und Kreislauf erklärt. Heute darf man als sicher gelten lassen, daß hierfür jedoch die relative Einbuße immunologischer Aktivitäten angeschuldigt werden muß.

3.2 Eigene Untersuchungsergebnisse

3.2.1 Experimentelle Untersuchungen über die Antigenität tiertransplantabler Tumoren

3.2.1.1 Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

Es wurden insgesamt 330 Albinoratten¹⁸ mit Gewichten um 200 g in Versuch genommen und in 3 Haupt- und jeweils 8 Untergruppen eingeteilt (Tab. 3).

¹⁸ Wistar-Ratten der Fa. KRAMER, Köln.

Tab. 3. Versuchsanordnung, Behandlungsplan [s. S. 99, 101 bis 102]

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Vorbe- handlung	1	2 Tu inocul.	=	=	=	ohne Vorbe- handlung	=	=
	2	1 Tu extirp.	=	=	=			
A	Tu/H-Tf	Tu- Zell-Susp.	Tu- Homogenat	H-Tf	—	+ M-Lym. I	+ M-Lym. II	+ M-Lym. III
B	Tu/K- γ -Glob.	Tu- Zell-Susp.	Tu- Homogenat	K- γ -Glob.	—	+ M-Lym. I	+ M-Lym. II	+ M-Lym. III
C	Tu/H-Ery.	Tu- Zell-Susp.	Tu- Homogenat	H-Ery.	—	+ M-Lym. I	+ M-Lym. II	+ M-Lym. III
n	je 25	je 10	je 10	je 25	je 10	je 10	je 10	je 10

Sämtliche Tiere der Gruppen A_I bis A_V , B_I bis B_V und C_I bis C_V erhielten nach einer Blutentnahme von 1,0 ml für die Nullwerte an zwei verschiedenen Stellen WALKER-Tumorzellfiltrat¹⁹ (2×10^6 Zellen/ml) inokuliert. Nach Heranwachsen der Tumoren etwa bis zu Kirschgröße wurde bei allen tumortragenden Ratten eines der beiden Carcinome exstirpiert und auf verschiedene Weise aufbereitet:

Die Tiere der Gruppe A_I erhielten eine Präparation aus autologem Tumorzellfiltrat, gekuppelt an Humantransferrin, die Gruppe B_I eine Präparation aus autologer Tumorzellsuspension, gekuppelt an γ -Globulin des Kaninchens, die Ratten der Gruppe C_I einen Komplex aus autologen Tumorzellen und Humanerythrozyten, jeweils 2mal wöchentlich über einen Zeitraum von 6 Wochen subkutan injiziert. Die Ratten der Gruppen A_{II} , B_{II} und C_{II} erhielten lediglich Tumorzellsuspension ihres eigenen, exstirpierten Tumors nach oben angegebenem Modus reappliziert, die Ratten der Gruppen A_{III} , B_{III} und C_{III} wurden mit autologem Tumorphomogenat behandelt, die Tiere der Gruppe A_{IV} erhielten freies Humantransferrin, die der Gruppe B_{IV} Kaninchen- γ -Globulin und die der Gruppe C_{IV} Humanerythrozyten appliziert. Den Ratten der Gruppen A_V , B_V sowie C_V wurde lediglich einer der beiden Tumoren entfernt; sie blieben von da an unbehandelt. Den Tieren der Gruppen A_{VI} , B_{VI} und C_{VI} wurden Milzzellsuspensionen (1×10^6 /ml) jeweils von Ratten der Gruppe A_I bzw. B_I resp. C_I übertragen; sie erhielten im Anschluß daran WALKER-Carcinomzellen inokuliert. Dieselbe Versuchsanordnung wurde auf die Gruppen A_{VII} , B_{VII} und C_{VII} unter Verwendung der Milzzellen der Ratten aus den Gruppen A_{II} , B_{II} und C_{II} angewandt. Die Gruppen A_{VIII} , B_{VIII} und C_{VIII} wurden schließlich mit den Milzzellen der Tiere aus den Gruppen A_{III} , B_{III} und C_{III} beschickt.

3.2.1.2 Methodik

Vor Versuchsbeginn, am 12., 24., 36., 48. und jeweils am Tage ante finem wurden **Serumuntersuchungen** zur Aufklärung folgender Faktoren vorgenommen:

Verhalten der Serumeiweißkörper: *Celluloseacetatfolien-Elektrophorese* (nach KOHN);

¹⁹ WALKER-Carcinom-tragende Ratten wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. GRUNDMANN, Fa. BAYER, Leverkusen, zur Verfügung gestellt.

Nachweis präzipitierender Antikörper gegen Transferrin bzw. Kaninchen- γ -Globulin, Humanerythrozytenhomogenat sowie Tumorphomogenat: *Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion* im Agargel (nach OUCHTERLONY);

Nachweis agglutinierender, bivalenter Antikörper gegen Humantransferrin, Kaninchen- γ -Globulin, Humanerythrozytenhomogenat sowie Tumorphomogenat: *Passive Hämagglutinationsreaktion* (nach BOYDEN);

Nachweis tumorspezifisch sensibilisierter Lymphozyten: *MLTC-Test* (nach BRUNNER [17]) sowie passive Übertragung sensibilisierter Lymphozyten auf unvorbehandelte Tiere mit nachfolgender Tumorzell-Inokulation.

Schließlich Beurteilung des peritumoralen Gewebes an Residualtumoren mit Hilfe *histologischer Technik*.

Tumorzell-Präparationen: Die an Humantransferrin, Kaninchen- γ -Globulin bzw. Humanerythrozyten gekuppelten Tumorzell-Präparationen wurden prinzipiell mit der Bisdiazotierungstechnik mit Benzidin (BDB-Technik) vorgenommen. Nähere Einzelheiten sind eigenen früheren Arbeiten zu entnehmen [39, 105].

Tumorzellhomogenat: Die Herstellung von Tumorzellhomogenat erfolgte im wesentlichen durch Zertrümmerung der Tumorzellen mit Hilfe des Ultra-Turrax-Homogenisators²⁰. Einzelheiten siehe bei [39, 105].

Operations- und Transplantationstechniken: Sie wurden ebenfalls in eigenen früheren Arbeiten [103, 104] bereits ausführlich dargelegt.

3.2.1.3 Ergebnisse

Eine ausführliche Beschreibung der einzelnen Befunde aus vorliegenden Untersuchungsreihen wird an anderer Stelle (in Vorbereitung) veröffentlicht werden. Im nachfolgenden sollen die wichtigsten und interessantesten Beobachtungen wiedergegeben werden:

Beobachtungen an den Tieren: Während unter den Tieren der Gruppen A_{II} bis A_V , B_{II} bis B_V und C_{II} bis C_V in keinem Fall ein Rückgang des Tumorwachstums des nach Exstirpation eines der beiden primär inokulierten Tumoren verbliebenen Carcinoms zu beobachten war, kam es in Gruppe

²⁰ Ultra-Turrax-Zerstäuber (20 000 Upm), Fa. Janke & Kunkel, 8974 Oberstaufen.

A_I in 74% zu einem vollkommenen Schwund und in weiteren 23% zu einer merklichen Retardierung des Tumorstwachstums. In den Gruppen B_I sowie C_I konnten ebenfalls Schwund der Tumoren und Retardierung des Tumorstwachstums beobachtet werden. Die Prozentzahlen lagen jedoch nicht so hoch wie in Gruppe A_I (vgl. Tab. 4).

Tab. 4. Behandlungserfolge der drei Hauptversuchsgruppen aus dem eigenen Untersuchungsgut.

Tumor-Humantransferrin	74% + 23%	97%
Tumor- γ -Globulin (vom Kaninchen)	25% + 33%	58%
Tumor-Humanerythrozyten	12% + 7%	19%

Die Prozentzahlen nach dem „+“ geben die Zahlen derjenigen Tiere an, welche zwar keine völlige Tumorstabstößung, aber eine deutliche Rückentwicklung des verbliebenen Tumors und eine „klinisch“ und serologisch faßbare Besserung ihres Allgemeinzustandes erkennen ließen.

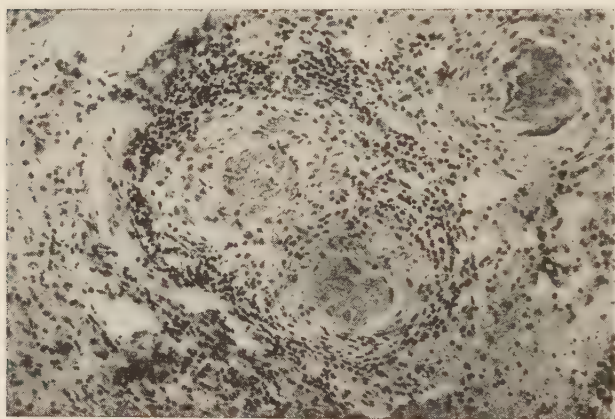
Antikörpernachweis: Zirkulierende Antikörper konnten gegen Transferrin, Kaninchen- γ -Globulin sowie gegen Humanerythrozytenhomogenat in den entsprechenden Versuchsgruppen nachgewiesen werden. Zirkulierende Antikörper gegen Tumorsthomogenat wurden vorwiegend mit der Hämagglutinationsreaktion faßbar. Prozentualer Anteil sowie Titerhöhen waren jedoch in den verschiedenen Gruppen recht unterschiedlich. Dies bezog sich im wesentlichen auf die Gruppen A_I , B_I und C_I – für Humantransferrin, Kaninchen- γ -Globulin sowie Humanerythrozyten-Homogenat auch auf die Gruppen A_{IV} , B_{IV} sowie C_{IV} . Antikörper gegen Tumorsthomogenat konnten in allen übrigen Gruppen nicht nachgewiesen werden.

Verhalten der Serumeiweißkörper: Die Serumeiweißkörper zeigten in den Gruppen A_I , B_I und C_I in den Fällen mit Tumorstrückgang eine initiale, jedoch passagere Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und α -Globulin-Vermehrung, die sich jedoch gegen Ende der Beobachtungszeit weitgehend normalisierte. Die Tiere der übrigen Gruppen zeigten eine zunehmend sich vertiefende Dysproteinämie mit Hypalbuminämie, α -Globulin-Vermehrung, Reduzierung der β - und in einer Prozentzahl von 37% mit gleichzeitiger Hypogammaglobulinämie.

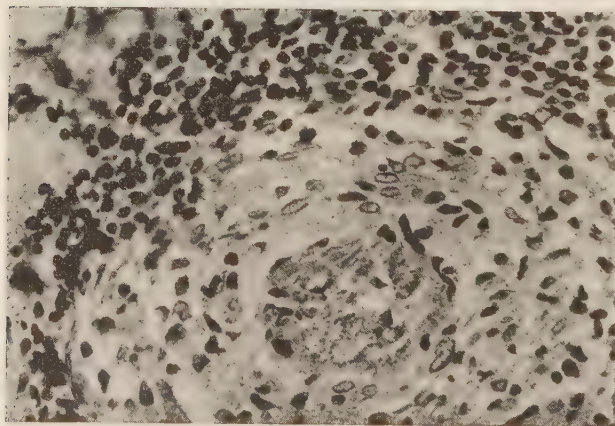
Befunde des MLTC-Tests: Hier ergab sich eine eindeutige Korrelation der positiven Befunde mit Lysiraten bis zu 97% (der Tumorstzellen) mit den

Befunden des Tumorrückganges in den Gruppen A_I , B_I sowie C_I . In allen übrigen Gruppen blieb der MLTC-Test negativ oder ergab Lysiraten von nur 15 bis 23%.

Passive Übertragung sensibilisierter Lymphozyten: Dieser immunbiologische Test ergab ebenfalls in den Fällen, in welchen eine Tumortransplantatabstoßung objektiviert werden konnte, eine eindeutige Inhibition inokulierter, frischer WALKER-Carcinomzellen. Der Test blieb ohne Erfolg bei Verwendung der Lymphozyten aller übrigen Tiere. Wirksam war außer der Lymphozytensuspension auch das Lymphozytenhomogenat sensibilisierter Immunzellen!



a ca. 125 $\times$



b ca. 320 $\times$

Abb. 19 Peritumorale, lymphozytäre Infiltration um zugrundegehende WALKER-
a — b Carcinomzellen (Befunde an Residualtumoren aus der Gruppe der mit Tumorzell-Humantransferrin-Komplex behandelten Tiere).

Histologische Befunde: Feingewebliche Untersuchungen am peritumoralen Gewebe von Residual-Tumoren aus den positiv reagierenden Tieren der Gruppen A_I , B_I und C_I ergaben das Bild der Tumorzellnekrose mit eindeutigem peritumoralem Lymphozytenwall. In Einzelfällen waren infiltrierend in den Tumor eindringende Lymphozyten wahrnehmbar. Unter den Lymphozyten waren kleinzellige Lymphozyten mit dichtem Kern sowie verschiedengradig aufgelockerte Lymphozyten mit relativ hellem Zytoplasma und weniger dichtem Kern zu sehen (Abb. 19).

3.2.2 Klinisch faßbare Immunphänomene

3.2.2.1 *Patientengut, Untersuchungstechniken und Befunde der Gruppe I*

Es wurden zwei größere Patienten-Gruppen (Tab. 5 und 6) mit verschiedenen Erkrankungen, malignen Tumoren sowie entzündlichen Prozessen, untersucht.

In der ersten, 110 Patienten mit ausschließlich malignen Tumoren umfassenden Gruppe (Tab. 5), wurden folgende Untersuchungen vorgenommen und folgende Befunde erhoben:

Tab. 5. Klinisches Untersuchungsgut der Gruppe I

Diagnose	Anzahl der untersuchten Patientenseren
Magen-Carcinom	51
Colon- bzw. Rectum-Carcinome	44
Oesophagus-Carcinom	4
Pankreas-Carcinom	3
Schilddrüsen-Carcinom	2
malignes Melanom	1
Melanoblastom	1
Mamma-Carcinom	4
Gesamtzahl	110

Tuberkulinprobe (zum Nachweis der zellulär vermittelten, immunologischen Reaktionslage der Patienten): In 36% aller untersuchten Patienten positiv. Gute Übereinstimmung mit dem histologisch faßbaren Befund der Peritumoralregion (s. u.).

Histologische Befunde des Peritumoralbereichs an HE-Schnitten von Operationspräparaten (zum Nachweis der spezifischen, zellvermittelten Antikörperbildung der Patienten): In 40% Nachweis einer, zum Teil intensiven, mononukleären, peritumoralen Reaktion. In einigen Fällen infiltrative Lymphozytenreaktion sowie vereinzelt Tumorzell-Lymphozyten-Kontakt-Phänomene.

Fluoreszenzimmunologische Untersuchungen an Gefrierschnitten oder Tumorzellausstrichen unter Verwendung autologer Seren und fluoreszenzmarkierter *Antiseren gegen die Immunglobulinklassen IgG, IgA und IgM* (zum Nachweis tumorspezifischer, molekularer Antikörper gegen Tumorzellantigene) sowie fluoreszenzimmunologische Untersuchungen an Gefrierschnitten oder Tumorzellausstrichen unter Verwendung eines fluoreszenzmarkierten *Anti- α_2 -Makroglobulins* (zur Aufklärung der vielfach starken α_2 -Makroglobulinvermehrung im Serum von Patienten mit malignen Tumoren):

Indirekter Nachweis zirkulierender Autoantikörper gegen Tumorzellantigene: In 46% positive Resultate (IgG- sowie IgM-spezifisch); darunter in 64% vorwiegend Membranfluoreszenz, in 33% Zytoplasmafluoreszenz und in 3% Zytoplasma- und Kernfluoreszenz (Melanoblastom und Melanom).

Nachweis des α_2 -Makroglobulins an Tumorzellen: α_2 -Makroglobulin fand sich im Zytoplasma sämtlicher Magencarcinome, ferner im Zytoplasma des Melanoblastoms. Die Fluoreszenzintensität am Zytoplasma der Colon- sowie Mamma-Carcinome war wesentlich geringer als an Magencarcinomen.

Immunelektrophoretische Analyse der Patientenserum (zur Beurteilung von „Akute-Phase-Reaktionen“ sowie des Immunglobulinsystems): In 41% ergab sich eine Dysproteinämie mit auffälliger Verstärkung des α_2 -Makroglobulins und des α_2 -Coeruloplasmins. In 17% Hypogammaglobulinämie mit partiellem Antikörpermangelsyndrom verschiedenster Konstellation. In 1,8% (2 Beobachtungen) Paraproteinnachweis (γ G-Typ sowie γ M-Typ). 30% der untersuchten Seren waren formanalytisch und semiquantitativ unauffällig. In 10% zeigte sich eine deutliche Hypergammaglobulinämie sowie eine α_2 -Makroglobulinverstärkung.

Nachweis des C-reaktiven Proteins: In 32% positiv (Verdünnungen bis zu 1:128).

HAA-Nachweis im Serum und Tumorhomogenat (unter Verwendung von Anti-HAA sowie HAA): *Serum*: In 2 Fällen, d.h. 1,8% – *ohne* Transfusionsanamnese! – positiv. HAA-Antikörper negativ. *Tumorhomogenat*: In einem der untersuchten Mamma-Carcinom-Homogenate war als dem einzigen Beispiel aller analysierten Präparate HAA nachweisbar.

Nachweis des α_1 -Foetoproteins im Serum und Tumorhomogenat (unter Verwendung eines spezifischen Anti- α_1 F-Serums): In keinem der untersuchten Fälle war α_1 -Foetoprotein nachweisbar, weder im Serum noch im autologen Tumorhomogenat.²¹

Lymphozyten-Transformationstest unter Verwendung autologen Tumorzellhomogenats und kurzfristig kultivierter Patienten-Lymphozyten (Kontrollgruppe mit PHA): Diese Testung wurde an nur 30 von den 110 beobachteten Patienten vorgenommen. Unter dieser Gruppe ergaben sich 4 eindeutig positive Befunde.

MLTC-Test: Unter den 30 getesteten Patienten konnten 6 positive Resultate erzielt werden.

3.2.2.2 Patientengut, Untersuchungstechniken und Befunde der Gruppe II

In der zweiten, 126 Patienten mit entzündlichen und malignen Erkrankungen des Verdauungstraktes umfassenden Gruppe (Tab. 6), wurden deren Seren auf den Nachweis zirkulierender, präzipitierender Antikörper gegen verschiedene Fraktionen der Magen- sowie der Oesophagusschleimhaut geprüft. Zu diesem Zweck wurden aus gepoolten Schleimhauthomogenaten sowohl des Magens als auch des Oesophagus (von Leichenorganen des Menschen) durch fraktionierte Ultrazentrifugation folgende Fraktionen aufbereitet: Zytoplasmafraktion, Kernfraktion, Mikrosomen/Mitochondrien-Fraktion sowie Gesamtzell-Homogenat. Jedes Serum wurde mit 8 Antigenpräparationen getestet.

Als *Ergebnis* konnte festgestellt werden, daß in 56,3% aller untersuchten Seren ein positives Resultat in Form von einer oder von zwei (drei) Präzipitationslinien objektivierbar wurde. Mit Magenfraktionen wurden 37,7%, mit Oesophagusfraktionen 31,0% positiver Befunde erzielt. 11,9% reagier-

²¹ Die auf S. 88 (Fußnote) erwähnten eigenen Beobachtungen entstammen nicht diesem, sondern einem neueren Untersuchungsgut.

Tab. 6. Klinisches Untersuchungsgut der Gruppe II

Diagnose	Anzahl der untersuchten Patientenseren
Oesophagitis	3
Oesophagus-Carcinom	2
Gastritis	6
Ulcus ventriculi	23
Magen-Carcinom	20
Perniciosa	3
Duodenitis	1
Ulcus duodeni	16
Pankreatitis	11
Pankreas-Carcinom	3
Colitis ulcerosa	9
Colon-Carcinom	6
Sigma-Neoplasma	5
Rektum-Carcinom	9
Ileus	1
Appendicitis	2
Colon spasticum	1
Hämorrhoiden	1
Rectum-Fistel	2
Cholelithiasis	1
Polyposis recti	1
Gesamtzahl	126

ten mit Fraktionen aus beiden Organen, was einer Häufigkeit kreuzreagierender Antikörper von 21,1% der positiven Seren entspricht. Bei Aufteilung der Gesamtbefunde unter malignen und benignen Erkrankungen wurden präzipitierende Antikörper bei malignen Prozessen in 68,9%, bei benignen in nur 49,4% nachgewiesen. Die am häufigsten positiv ausgefallenen Reaktionen ergaben sich mit der Zytoplasmafraktion; ihr folgte die Kernfraktion. Das gilt sowohl für die Homogenate des Magens als auch für die des Oesophagus und das gilt ebenso für die Verteilung auf maligne und benigne Erkrankungen.

3.2.3 Schlußbetrachtungen zu den eigenen Befunden

Die Ergebnisse der eigenen experimentellen Untersuchungen beweisen insgesamt, daß unter der Reapplikation auto-xenologer Tumorzell-Komplexe

eine offenbar „clonale“, tumorspezifische Aktivierung des ICS tumortragender Tiere induziert wird. Die Erfolgsreaktion wird in diesen Fällen im Sinne der typischen Transplantatabstoßungsreaktion faßbar. Die an Tumorzellen gekuppelten Fremdfaktoren, Humantransferrin, Kaninchen- γ -Globulin bzw. Humanerythrozyten, scheinen dabei als „dooping substances“ wirksam zu sein, ohne daß membranspezifische Tumorantigenität verlustig geht. Die Beobachtungstatsache, daß unter den verschiedenen Versuchsgruppen die mit Tumorzell-Humantransferrin-Komplexen behandelten Tiere die besten, immunologisch erklärbaren Behandlungserfolge zeigten, kann auf verschiedene Weise interpretiert werden:

Humantransferrin ist ein relativ einheitliches Antigen, während Kaninchen- γ -Globulin einen Antigenkomplex mit Subfraktionen und Isomeren darstellt. Homogene Proteine besitzen erfahrungsgemäß einen größeren antigenen Effekt als heterogene. Bei der Kupplung mit Humanerythrozyten können die Membranantigene der Tumorzelloberfläche durch komplette Hämadsorption zu stark verdeckt worden sein, weshalb in einem nur geringen Ausmaß eine Retardierung des Tumorwachstums faßbar wurde. Möglicherweise wurde durch die Komplexbildung mit Erythrozyten eine Behinderung der TST-Antigenwirkung verursacht.

Die bessere Antigenwirkung der Tumorzell-Transferrin-Komplexe kann aber auch damit erklärt werden, daß, in Analogie zur Adsorption des Transferrins an die Oberflächen von Retikulozyten [28, in 106], Tumorzellen ebenfalls Transferrin zu binden vermögen. Dies kann damit im Zusammenhang stehen, daß Tumorzellen, ebenso wie Retikulozyten, dem relativ kleinemolekularen Transferrin das ionisierte Eisen entziehen. Reife Erythrozyten zeigen dieses Phänomen nicht mehr [64, 83]. Tumorzellen benötigen bekanntlich für ihren Stoffwechsel ebenfalls ionisiertes Eisen in relativ großer Menge. Außer dieser Erklärung für die Transferrin-Adsorption auch an Tumorzellen bestehen heute wohlfundierte Anhaltspunkte dafür, daß Tumorzellen und Erythrozyten chemisch verwandte (oder sogar identische) Rezeptoren in ihren Zellmembranen aufweisen [5, 97, 126], wodurch sich kreuzreagierende Antikörper mit hämolysierenden Eigenschaften ableiten lassen. Diese Rezeptoren können jedoch in gleicher Weise für die Anlagerung von Transferrin verantwortlich gemacht werden. Aus diesen Überlegungen kann die Konsequenz gezogen werden, daß die Bisdiazotierung in zukünftigen Versuchsanordnungen wahrscheinlich wegfallen kann.

Das im Experiment erarbeitete Modell unter Verwendung eines Tumor-Transferrin-Komplexes kann für eine erfolgreiche, immunologische Tumor-

behandlung im Falle einer tumorspezifischen Sensibilisierung u. E. auch auf die Humanmedizin übertragbar werden.

Die Resultate der klinischen Untersuchungen haben gezeigt, daß unter den angewandten Techniken die fluoreszenzserologischen sowie die histomorphologischen die am besten verwertbaren Befunde geliefert haben. Die Präzipitin-Teste ergaben zwar zahlenmäßig die größte Ausbeute positiver Resultate, ihre Spezifität dürfte jedoch nicht sehr streng und ihre Bedeutung derzeit noch problematisch sein. Sie können jedoch bei Herstellung hochgereinigter, spezifischer Antigenfraktionen als Indikatorfaktoren noch großen klinischen Wert erlangen.

Literatur I

- [1] ABELEV, G. I.: Progr. exp. Tumor Res. **7**, 104 (1965); Immunopathology, IV. Internat. Sympos. Schwabe, Basel—Stuttgart 1966, S. 41.
- [2] ABELEV, G. I., N. I. KHRAMKOVA und Z. A. POSTNIKOVA: Neoplasma (Bratisl.) **9**, 125 (1962).
- [3] AIZAWA, M. und C. M. SOUTHAM: Ann. N. Y. Acad. Sci. **87**, 293 (1960).
- [4] AMOS, D. B. und E. D. DAY: Ann. N. Y. Acad. Sci. **64**, 851 (1957).
- [5] AMOS, D. B., P. A. GORER und Z. B. MIKULSKA: Proc. Roy. Soc. **144**, 369 (1955).
- [6] APTEKMAN, P. M., M. R. LEWIS und H. D. KING: J. Immunol. **52**, 703 (1946).
- [7] ARCOMANO, J. P., J. C. BARNETT und J. J. BOTTONE: Amer. J. SURGERY **96**, 703 (1958).
- [8] ARONSON, S. B., W. RAPP, I. KUSHNER und P. BURTIN: Int. Arch. Allergy **26**, 327 (1965).
- [9] BADE, W. F., I. L. SPAR, R. L. GOODLAND und D. E. WOLFE: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **89**, 564 (1955).
- [10] BÄR, U., E. SCHMIDT und F. W. SCHMIDT: Klin. Wschr. **41**, 68 (1963).
- [11] BALDWIN, R. W.: Acta Un. int. Cancer **19**, 545 (1963).
- [12] BARRETT, M. K.: J. Nat. Cancer Inst. **1**, 387 (1940); J. Chron. Dis. **8**, 136 (1958).
- [13] BARRY, G. T.: Cancer Res. **10**, 694 (1950).
- [14] BASHFORD, E. J.: Brit. Med. J. **7**, 18 (1903); Z. Immunit. forsch. **1**, 449 (1909).
- [15] BENAD, G. und H. FROHBERG: Z. Krebsforsch. **61**, 444 (1957).
- [16] BERDEL, W.: Dtsch. med. Wschr. **28**, 880 (1957).
- [17] BERDEL, W., E. BUDECKE und G. WIEDEMANN: Wiss. Beibl. Mat. Med. Nordmark **1953/III**.
- [18] BERDEL, W., G. NASS und G. WIEDEMANN: Int. Arch. Allergy **9**, 200 (1956).
- [19] BERG, J. W.: Cancer **12**, 714 (1959).
- [20] BERG, G., K. H. KIMBEL und F. SCHEIFFARTH: Naturwiss. **42**, 51 (1955).
- [21] BESREDKA, A. und L. GROSS: Acta Un. int. Cancer **4**, 693 (1939); Presse Méd. **1957**, 248.
- [22] BILLINGHAM, R. E.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **59**, 409 (1955).
- [23] BILLINGHAM, R. E. und E. M. SPARROW: J. Embryol. Exp. Morph. **3**, 265 (1955).
- [24] BILLINGHAM, R. E., L. BRENT und P. B. MEDAWAR: Phil. Trans. Roy. Soc. s. B. **239**, 357 (1955); Trans. Bull. **3**, 84 (1956).
- [25] BITTNER, J. J.: J. Genetic **31**, 1935; J. Cancer **28**, 121 (1936); Ann. N. Y. Acad. Sci. **68**, 636 (1957); Tex. Rep. Biol. a. Med. **15**, 211 (1957).
- [26] BITTNER, J. J. und D. T. IMAGAWA: Cancer Res. **15**, 464 (1955).
- [27] BITTNER, J. J., H. H. HIRSCH, J. D. ROSS und R. GABRIELSON: Cancer Res. **19**, 918 (1959).
- [28] BJÖRKLUND, B.: Int. Arch. Allergy **8**, 179 (1956).
- [29] BJÖRKLUND, B. und V. BJÖRKLUND: Int. Arch. Allergy **10**, 153 (1957).
- [30] BJÖRKLUND, B., G. LUNDBLÄS und V. BJÖRKLUND: Int. Arch. Allergy **12**, 241 (1958).
- [31] BONATTI, A., W. RAPP und P. BURTIN: Protid. Biol. Fluids, 12. Coll., Brügg, 1963; Elsevier Publ. Amsterdam—London—New York **1964**, S. 219.
- [32] BORREL, A.: Ann. Inst. Pasteur **1903**.
- [33] BOYDEN, S. V.: J. exp. Med. **93**, 107 (1951).

- [34] BRADA, Z.: Acta Un. Int. Cancer **20**, 945 (1964); Neoplasma (Bratisl.) **12**, 373 (1965).
- [35] BRANDT, H., H. GUTH und R. MÜLLER: Klin. Wschr. **5**, 655 (1926).
- [36] BRENT, L.: Progr. in Allergy **5**, 271 (1958).
- [37] BRENT, L. und P. B. MEDAWAR: Brit. med. J. **1963/II**, 269.
- [38] BROWN, E. R. und J. J. BITTNER: Proc. Soc. Exp. a. Med. **106**, 303 (1961).
- [39] BURNET, M.: Brit. med. Bull. **20**, 154 (1964).
- [40] BURROWS, D.: Brit. med. J. **1**, 368 (1958).
- [41] BURROWS, D. und D. W. NEILL: Brit. med. J. **1**, 370 (1958).
- [42] BURTIN, P., S. von KLEIST, W. RAPP, F. LOISILLIER, A. BONATTI und P. GRABAR: 4. Symp. Immunopathology, Monte Carlo, Schwabe, Basel—Stuttgart **1965**.
- [43] CAHN, R. D., N. O. KAPLAN, L. LEVINE und E. ZWILLING: Science **136**, 962 (1962).
- [44] CANTINO, J. und G. S. GORDAN: Cancer **20**, 462 (1967).
- [45] CAPUTO, A. und M. L. MARCANTE: Acta Un. int. Cancer **18**, 99 (1962).
- [46] CATSHPOLE, H. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **75**, 221 (1950).
- [47] CHEEVER, F. S. und C. A. JANEWAY: Cancer Res. **1**, 23 (1941).
- [48] CLAUSEN, J. R., H. E. RASK-NIELSEN, H. CHRISTENSEN, R. LONTIE und J. HEREMANS: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **103**, 802 (1960).
- [49] COONS, A. H. und M. KAPLAN: J. exp. Med. **91**, 1 (1950).
- [50] COONS, A. H., H. J. CREECH und R. N. JONES: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **47**, 200 (1941).
- [51] CSABA, G. und I. TÖRÖ: Z. Krebsforsch. **62**, 481 (1957).
- [52] DE CARVALHO, S. und H. J. RAND: Exp. molec. Path. **2**, 32 (1963).
- [53] DE CARVALHO, S., H. J. RAND und M. ASHBY: Exp. molec. Path., Suppl. **2**, 150 (1963).
- [54] DECKERS, C.: Protides Biol. Fluids, 12. Coll., Brügge 1964; Elsevier Publ. Amsterdam—London—New York **1965**, 105.
- [55] DEMLING, L.: Klin. Wschr. **30**, 74 (1952); Ärztl. Forsch. **8/I**, 154 (1954).
- [56] DEMLING, L., H. KINZLMEIER und N. HENNING: Z. exp. Med. **122**, 416 (1954).
- [57] DEUTSCH, H. F. und M. B. GOODLOE: J. Biol. Chem. **161**, 1 (1946).
- [58] DITTMAR, C.: Z. Krebsforsch. **50**, 472 (1940).
- [59] DOERR, R.: Allergie und Anaphylaxie, Handbuch der pathologischen Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. I, 759, Springer, Wien **1928**; Die Immunitätsforschung, Bd. I: Antikörper, Springer, Wien **1947**; Die Immunitätsforschung, Bd. III: Antigene, Springer, Wien **1948**.
- [60] DOLEŽALOVÁ, V., Z. BRADA und A. KONČENT: Neoplasma (Bratisl.) **11**, 257 (1964).
- [61] DOMAGK, G.: Z. Krebsforsch. **56**, 247 (1949); Strahlentherap. **83**, 565 (1950); Dtsch. med. Wschr. **1956**, 801; Dtsch. med. Wschr. **1956**, 821; Experimentelle Geschwulstforschung, Handb. d. Allg. Pathol., Bd. VI/3 Geschwülster Springer, Berlin—Göttingen—Heidelberg **1956**.
- [62] DOMAGK, G. und Chr. HACKMANN: Z. Krebsforsch. **42**, 192 (1935); Z. Krebsforsch. **42**, 385 (1935).
- [63] DRUCKREY, H., K. KUPFMÜLLER und W. TRAPPE: Z. Krebsforsch. **56**, 407 (1949).
- [64] DULANY, A. D. und K. ARNESEN: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 665 (1942).
- [65] DUNGERN, V. E.: Münch. med. Wschr. **54**, 2854 (1912).
- [66] EHRLICH, P.: Arb. Inst. exp. Therap., Frankfurt a. M. **1906**, S. 493; Z. Krebsforsch. **5**, 59 (1907).
- [67] ELDREDGE, N. T. und J. M. LUCK: Cancer Res. **12**, 801 (1952).
- [68] EVERSON, T. C. und W. H. COLE: Ann. Surgery **144**, 366 (1956).
- [69] FEO, F., P. de GREGORIO und L. GABRIEL: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **109**, 515 (1962).
- [70] FINK, M. A., P. SMITH und M. V. ROTHLAUF: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **90**, 590 (1955).

- [71] FINNEY, J. W., E. H. BYERS und R. H. WILSON: *Cancer Res.* **20**, 351 (1960).
- [72] FISCHER, R. und F. WULEN: *Z. exp. Med.* **130**, 538 (1956).
- [73] FISCHER-WASELS, B.: *Strahlentherap.* **50**, 5 (1934); *Acta internat. Verh. Krebsch.* **IV**, 3 (1934); *C. r. Soc. Biol.* **129**, 101 (1938).
- [74] FLEXNER, S. und W. JOBLING: *Bull. Inst. Pasteur* **1907**.
- [75] FOLEY, E. J.: *Cancer Res.* **13**, 578 (1953).
- [76] FOLEY, E. J.: *Cancer Res.* **13**, 853 (1953).
- [77] FRIEDEWALD, W. F. und J. G. KIDD: *J. exp. Med.* **82**, 21 (1945).
- [78] FRITZ, W.: *Arch. Geschwulstforsch.* **26**, 69 (1965).
- [79] FUCHS, H. J. und H. KOWARZYK: *Z. Immunit. forsch.* **80**, 375 (1933).
- [80] GJESSING, E. C. und A. CHANUTIN: *J. Biol. Chem.* **160**, 657 (1947).
- [81] GOLDENBERG, D. und H. GÖTZ: *Europ. J. Cancer* **4**, 547 (1968).
- [82] GORER, P. A.: *J. Path. a. Bact.* **54**, 51 (1942); *Adv. Cancer Res.* **4**, 149 (1956); 3. Tissue Transplant. Conf., N. Y. Acad. Sci. **1958**.
- [83] GORER, P. A. und D. B. AMOS: *Cancer Res.* **16**, 338 (1956).
- [84] GORER, P. A. und N. KALISS: *Cancer Res.* **19**, 824 (1959).
- [85] GORER, P. A. und Z. B. MIKUSLKA: *Cancer Res.* **14**, 603 (1954).
- [86] GORER, P. A. und P. O'GORMAN: *Transplantation* **3**, 142 (1956).
- [87] GOUDIE, R. B. und H. M. MCCALLUM: *Lancet* **2**, 1035 (1963) — London —.
- [88] GÖTZ, H.: Dissertation, Erlangen **1955**; *Ärzt. Laborat.* **3**, 87 (1963); *Allergie- und Immunit. forsch.* **1**, 31 (1965); *Acta histochemica* **7**, 101 (1967).
- [89] GÖTZ, H. und F. SCHEIFFARTH: *Klin. Wschr.* **41**, 587 (1963).
- [90] GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH: *Z. Immunit. forsch.* **114**, 72 (1957).
- [91] GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und N. AL-SAFFAR: *Med. exp.* **10**, 27 (1964).
- [92] GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und I. DÜBELER: *Gastroenterology* **98**, 30 (1962).
- [93] GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und G. GAST: *Z. Gastroenterologie* **2/3**, 148 (1964).
- [94] GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und D. HOFFMANN: *Z. Gastroenterologie* **2/2**, 76 (1964).
- [95] GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH, H. WARNATZ und W. CHRISTMEIER: *Z. Gastroenterologie* **1967** (im Druck).
- [96] GRABAR, P.: *Bull. Soc. Chim. Biol.* **63**, 65 (1954); *Dtsch. med. Wschr.* **1954**, 1916; *Zbl. Bakter.* **164**, 15 (1955); 4. Coll. Sint. Jans Hospital, Brügge **1956**.
- [97] GRABAR, P. und P. BURTIN: *Analyse immuno-électrophorétique*. Masson et Cie, Paris **1960**; *Immunoelktrophoretische Analyse*. Elsevier Publ. Comp., Amsterdam **1964**.
- [98] GRABAR, P. und C. A. WILLIAMS: *Biochem. Biophys. Acta* **17**, 67 (1955); *Biochem. Biophys. Acta* **10**, 193 (1953).
- [99] GRACE, J. T. und T. KONDO: *Ann. Surgery* **148**, 633 (1958).
- [100] GRACE, J. T. jr. und A. LEHOCZKY: *Surgery* **46**, 238 (1959).
- [101] GRACE, J. T., F. GOLLAN, W. L. TAYLOR und R. I. CARLSON: *Surgery forum* **8**, 185 (1957).
- [102] GRAF, L. und M. M. RAPPORT: *Cancer Res.* **20**, 546 (1960).
- [103] GRAHAM, J. B. und R. M. GRAHAM: *Cancer* **8**, 409 (1955); *Surg. Gyn. a. Obstr.* **109**, 131 (1959).
- [104] GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL: *Dtsch. med. Wschr.* **1951**, 333.
- [105] GREEN, H. N.: *Brit. med. J.* **II**, 1374 (1954).
- [106] GREENSPAN, I., E. R. BROWN und S. O. SCHWARTZ: *Blood* **21**, 717 (1963).
- [107] GRÖNWALL, A.: *66. Tagg. Dtsch. Ges. inn. Med.* **1960**.
- [108] GROSS, L.: *Cancer Res.* **3**, 326 (1943).
- [109] GROSS, W. O. und E. SPECHTMEYER: *Z. Krebsforsch.* **65**, 565 (1963).
- [110] GUERRITORE, D., P. P. GAZZANIGA, M. LIPARI und F. R. SONNINO: *Oncologia* **19**, 453 (1965).
- [111] GUSSIO, S.: *Tumori* **1**, 75 (1911); *Tumori* **1**, 129 (1911); *Tumori* **1**, 327 (1911).

- [112] HACKETT, E. und E. GARDONYI: Brit. med. J. **1960**, 1785.
- [113] HACKMANN, Chr.: Z. Krebsforsch. **50**, 352 (1940); Verh. Dtsch. Ges. Pathol. **35**, Tagg. **1951**; Z. Krebsforsch. **57**, 164 (1951); Verh. Dtsch. Ges. Pathol. **1952**, 101; Verh. Dtsch. Ges. Pathol. **1952**, 115; Dtsch. med. Wschr. **1958**, 134.
- [114] HADDOW, A.: Brit. med. Bull. **21**, 133 (1965).
- [115] HAUSCHKA, T. S.: Cancer Res. **12**, 615 (1952).
- [116] HECHT, H.: Oncologia **8**, 46 (1959).
- [117] HEKTOEN, L., H. FOX und K. SCHULHOF: J. Infect. Dis. **40**, 641 (1927).
- [118] HENNING, N.: Laboratoriumsdiagnostik. Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin **1966**.
- [119] HENNING, N., L. DEMLING und R. KINZLMEIER: Klin. Wschr. **31**, 435 (1953).
- [120] HERMANN, G. und P. GRABAR: Internist **6/3**, 153 (1965).
- [121] HIRSCH, H. M., J. J. BITTNER, H. COLE und J. IVERSEN: Cancer Res. **18**, 344 (1958).
- [122] HIRSZFELD, L., W. HALBER und J. LASKOWSKI: Z. Immunit. forsch. **64**, 61 (1929); Z. Immunit. forsch. **64**, 61 (1929).
- [123] HIRSZFELD, L., W. HALBER, M. FLOKSZTRUMPF und J. KOLODZEJSKI: Klin. Wschr. **1930**, 342; Z. Immunit. forsch. **67**, 286 (1930).
- [124] HITZIG, W. H.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg **1963**.
- [125] HOFFMAN, H. E. und A. M. SCHECHTMAN: Cancer Res. **12**, 129 (1952).
- [126] HOFFMANN-OSTENOFF, O.: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER: Handbuch der physiol. chem. und pathol. chem. Analyse, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 10. Aufl., Bd. VI/B 1966, S. 1103.
- [127] HOYLE, L. A.: Amer. J. Cancer **39**, 224 (1940).
- [128] ITAKURA, K.: Genu. **54**, 93 (1963).
- [129] JENSEN, C. O.: Z. Bact. **34**, 28 (1903); Zbl. Bakteriell. **34**, 122 (1903).
- [130] KALISS, N.: Ann. N.Y. Acad. Sci. **59**, 385 (1955); Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **91**, 432 (1956); Proc. Acad. Sci. **42**, 269 (1956); Ann. N.Y. Acad. Sci. **64**, 977 (1957); Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. **2**, 312 (1958); Cancer Res. **18**, 992 (1958).
- [131] KALISS, N. und A. A. KANDUTSCH: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **91**, 118 (1956).
- [132] KALISS, N. und G. D. SNELL: Cancer Res. **11**, 122 (1951).
- [133] KALISS, N., P. R. F. BORGES und E. D. DAY: Cancer Res. **14**, 210 (1954).
- [134] KALISS, N., N. MOLOMUT, J. L. HARRIS und S. D. GAULT: J. Nat. Cancer Inst. **13**, 847 (1953).
- [135] KALNINS, V. I. und H. F. STICH: Nature (London) **200**, 1963.
- [136] KANDUTSCH, A. A. und U. REINERT-WENTK: Exper. Med. **105**, 125 (1957).
- [137] KENT, H. N. und G. O. GEY: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **94**, 205 (1957); Science **131**, 667 (1960).
- [138] KHRAMKOVÁ, N. I., Z. A. POSTNIKOVÁ und G. I. ABELEV: Neoplasma (Bratisl.) **10**, 127 (1963).
- [139] KIDD, J. C.: J. exp. Med. **71**, 335 (1940).
- [140] KLEIN, Z.: Immunopathology, 4. Internat. Sympos. Schwabe, Basel-Stuttgart **1966**, S. 13.
- [141] KLEIN, E. und G. KLEIN: Transplant. Bull. **3**, 136 (1956).
- [142] KLEIN, G., H. O. SJÖGREN, E. KLEIN und K. E. HELLSTRÖM: Cancer Res. **20**, 1561 (1960).
- [143] KLEIST von, S. und P. BURTIN: Protides Biol. Fluids, 12. Coll., Brüggel **1964**; Immunology **10**, 507 (1966).
- [144] KOECKE, U.: Verh. Dtsch. Ges. Pathol. **1952**, 103.
- [145] KORNGOLD, L.: Cancer Res. **16**, 956 (1956).
- [146] KORNGOLD, L. und G. van LEEUVEN: Cancer Res. **17**, 775 (1957).
- [147] KORNGOLD, L. und R. LIPARI: Cancer Res. **15**, 159 (1955).

- [148] KOSAKI, T.: *Science* **127**, 1176 (1958).
- [149] KUSHNER, I., W. RAPP und P. BURTIN: *Protides Biol. Fluids*, **11**, Coll., Brügge **1963**; Elsevier Publ. Comp., Amsterdam–London–New York **1964**, S. 248.
- [150] KUTZSCHE, A.: *Med. Mschr.* **3**, 493 (1949); *Z. Hyg.* **129**, 1949.
- [151] LAMIRANDE, G. De., C. ALLARD und A. CANTARO: *Cancer* **6**, 179 (1953).
- [152] LANDSTEINER, K.: *J. Immunol.* **15**, 589 (1928).
- [153] LEHMANN-FACIUS, H.: *Z. Immunit. forsch.* **75**, 217 (1932); *Z. Immunit. forsch.* **80**, 181 (1933).
- [154] LETTRÉ, H.: *Strahlentherap.* **79**, 363 (1949); *Z. Krebsforsch.* **57**, 1 (1950); *Naturwiss.* **37**, 335 (1950); *Z. Krebsforsch.* **59**, 64 (1953); *Scientia* **50**, H 4 (1956).
- [155] LEWIN, C.: *Z. Krebsforsch.* **11**, 317 (1912); *Z. Krebsforsch.* **11**, 335 (1912); *Z. Krebsforsch.* **11**, 352 (1912).
- [156] LEWIS, M. R.: *Bull. Johns Hopkins Hospital* **67**, 325 (1940).
- [157] LEYDEN, E. v.: *Z. klin. Med.* **43**, 1 (1901).
- [158] LI, C. H. und W. O. REINHARDT: *J. Biol. Chem.* **167**, 487 (1947).
- [159] LI, Y. T., LI, S. C. und M. R. SHETLAR: *Cancer Res.* **25**, 1225 (1965).
- [160] LINDER, A.: *Statistische Methoden für Mediziner, Naturwissenschaftler und Ingenieure*, Birkhäuser, Basel **1964**.
- [161] LOCHER, R.: *Das elektrophoretische Serumeiweißbild der Krebskrankheit*. Dissertation, Bern **1957**.
- [162] LOISILLIER, F.: In: HERMANN, G. und P. GRABAR: *Internist* **6**, 156 (1965).
- [163] LOISILLIER, F., D. BUFFE, K. G. TAN, P. BURTIN und P. GRABAR: *Ann. Inst. Pasteur* **1965**.
- [164] MACBETH, R. A. L. und J. G. BERSI: *Cancer Res.* **24**, 614 (1964).
- [165] MACBETH, R. A. L., J. G. BEKESI und J. TUBA: *Cancer Res.* **23**, 938 (1963).
- [166] MACDOWELL, E. C., J. S. POTTER und M. J. TAYLOR: *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **32**, 84 (1934).
- [167] MACKENZIE, I. und J. G. KIDD: *J. exp. Med.* **82**, 41 (1945).
- [168] MAISIN, J. P. MALDAGUE, C. DECKERS und PHAM HONG QUE: *Sympos. on Lymphomas*, Paris **1963**.
- [169] MAKARI, J. G.: *Brit. med. J.* **2**, 358 (1958); Vortrag: *Section of Biol. a. Med. Sci.* **1965**; *Nature (London)* **205**, 1178 (1965).
- [170] MALMGREN, R. A., B. E. BENNISON, B. F. ANDERSON und C. C. A. RISLEY: *J. Nat. Cancer Inst.* **11**, 1277 (1951).
- [171] MANN, L. S. und W. H. WELKER: *Amer. J. Cancer* **39**, 360 (1940).
- [172] MAYERSBACH, H. von: In: W. GRAUMANN und K. NEUMANN: *Handbuch der Histochemie*. Fischer, Stuttgart **1958**, S. 598.
- [173] MCKENNA, J. M., R. P. SANDERSON und W. S. BLAKEMORE: *Cancer Res.* **24**, 754 (1964).
- [174] MEDAWAR, P. B.: *Proc. Roy. Soc. s. B.* **146**, 1 (1956); *The Harvey Lectures* (1957) N.Y.: Academic Press **1958**.
- [175] MILGROM, F.: *Cancer Res.* **21**, 862 (1961); *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **129**, 767 (1966).
- [176] MILGROM, F., M. SELIGMANN, J. BERNARD und P. GRABAR: *Rev. d'Hématol.* **14**, 309 (1959).
- [177] MILLER, G. L., E. U. GREEN, E. E. MILLER und J. J. KOLB: *Cancer Res.* **10**, 148 (1950).
- [178] MITCHISON, N. A.: *J. exp. Med.* **102**, 157 (1955); *Transplant. Bull.* **2**, 93 (1955).
- [179] MITCHISON, N. A. und O. L. DUBE: *J. exp. Med.* **102**, 179 (1955).
- [180] MOORE, D. H., L. LEWIN und J. H. LEATHEM: *J. Biol. Chem.* **153**, 349 (1944).
- [181] MOORE, D. H., L. LEWIN und G. K. SMELSER: *J. Biol. Chem.* **157**, 723 (1945).
- [182] MOORE, B. W., P. U. ANGELETTI, V. SUNTZEFF, R. GAYLE und R. DYVENPORT: *Acta Un. int. Cancer* **20**, 947 (1964).

- [183] MURRAY, G.: *Canad. M. Assoc. J.* **79**, 249 (1958).
- [184] NADLER, S. und G. E. MOORE: *Immunologische Krebstherapie. Dtsch. Ärzteblatt* **3**, 1966; *Surgical Forum* **26**, 229 (1965); *Ann. Surgery* **164**, 482 (1966).
- [185] NAIRN, R. C., J. E. FOTHERGILL, M. G. McENTEGART und H. G. RICHMOND: *Brit. med. J.* **I**, 1791 (1962).
- [186] NELKEN, D.: *Vox. Sang.* **8**, 638 (1963).
- [187] OUCHTERLONY, Ö.: *Acta Path. et Microbiol. Scand.* **32**, 231 (1953); *Progr. Allergy* **5**, 1 (1958); 15. Colloquium Ges. physiol. Chem. Mosbach **1964**, 13.
- [188] OUDIN, J.: In: *The YEAR BOOK PUBLISHERS, Inc. Corcoran A. C. Chicago* **5**, 335 (1952).
- [189] PANTÉLOURIS, E. M.: *Brit. J. Cancer* **17**, 179 (1963).
- [190] PARIGOT, J., F. LACOUR und J. LACOUR: *Bull. Assoc. Franc. Cancer* **45**, 501 (1958).
- [191] PECHAN, Z. und Z. BRADA: *Neoplasma, Bratisl.* **7**, 366 (1960).
- [192] PFLEIDERER, G. und E. D. WACHSMUTH: *Klin. Wschr.* **1961**, 392; *Biochem. Z.* **334**, 185 (1961).
- [193] PLASS, R.: *Arch. Geschwulstforsch.* **26**, 10 (1965).
- [194] RAPP, W.: 15. Colloquium Ges. physiol. Chem., Mosbach, Springer **1965**, S. 47.
- [195] RAPP, W. und P. BURTIN: *Gastroenterologia* **102**, 355 (1964).
- [196] RAPP, W., S. B. ARONSON und P. BURTIN: *Protides Biol. Fluids*, 11. Coll., Brügge 1963, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam–London–New York **1964**, S. 1252; *Verh. Dtsch. Ges. inn. Med.* 69. Kongr. München Bergmann, München **1963**, S. 153.
- [197] RAPP, W., S. B. ARONSON, P. BURTIN und P. GRABAR: *J. Immunol.* **92**, 579 (1964).
- [198] RAPPORT, M. M. und L. GRAF: *Cancer* **8**, 538 (1955).
- [199] RAPPORT, M. M., L. GRAF und N. F. ALONZO: *Cancer* **11**, 1136 (1958); *J. Lipid Res.* **1**, 301 (1960).
- [200] RAPPORT, M. M., L. GRAF, V. P. SKIPSKI und N. F. ALONZO: *Cancer* **12**, 438 (1959).
- [201] RASK-NIELSEN, R. und H. GORMSEN: *Cancer* **4**, 387 (1951).
- [202] RICHTERICH, R. und A. BURGER: *Enzymol. Biol. Clin.* **3**, 65 (1963).
- [203] RICHTERICH, R., K. ZUPPINGER und E. ROSSI: *Nature (London)* **191**, 507 (1961).
- [204] RICHTERICH, R., J. LOCHER, K. ZUPPINGER und F. ROSSI: *Schweiz. med. Wschr.* **1962**, 919.
- [205] RITTER, S.: *Z. Krebsforsch.* **65**, 101 (1962).
- [206] RIVA, G.: *Das Serumeiweißbild*, H. Huber, Bern–Stuttgart **1957**.
- [207] ROUS, O. und J. B. MURPHY: *J. exp. Med.* **20**, 419 (1914).
- [208] RUBNER, O.: *Z. Immunit. forsch.* **116**, 453 (1958); *Ärzt. Forsch.* **5**, 2 (1958); *Allergie und Asthma* **4**, 329 (1959).
- [209] RUTENBERG, A. M., R. B. COHEN und A. M. SELIGMAN: *Science, New Series* **111**, 539 (1952).
- [210] SACHS, L. und M. FELDMAN: *J. Nat. Cancer Inst.* **21**, 563 (1958).
- [211] SCHEIDEGGER, J. J.: *Int. Arch. Allergy* **7**, 103 (1955); *Semaine Hop. Paris* **31**, 2119 (1956).
- [212] SCHEIFFARTH, F.: *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 46. Tagg. **1962**, S. 74; Fortbildungskurs Triest **1964**.
- [213] SCHEIFFARTH, F. und G. BERG: *Z. exp. Med.* **119**, 550 (1952); *Z. exp. Med.* **123**, 201 (1954).
- [214] SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ: *Int. Arch. Allergy* **16**, 61 (1959); *Klin. Wschr.* **42**, 130 (1964).
- [215] SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ: *Papierelektrophorese in Klinik und Praxis. Urban und Schwarzenberg, München–Berlin* **1962**.
- [216] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und F. CZAGANY: *Med. Welt* **28**, 1449 (1961).
- [217] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und S. EBERT: *Clin. Chim. Acta (Amsterdam)* **14**, 519 (1966).

- [218] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und R. FRICK: *Enzymol. Biol. Clin.* **8**, 283 (1967).
- [219] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und G. HOFFMANN: *Z. klin. Chem.* **2/5**, 142 (1964).
- [220] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und O. KNELLER: *Z. exp. Med.* **130**, 538 (1956).
- [221] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und M. SCHENKE: *Enzymol. Biol. Clin.* (im Druck).
- [222] SCHEIFFARTH, F., F. LEGLER und G. BERG: *Z. exp. Med.* **120**, 558 (1953); *Z. exp. Med.* **120**, 568 (1953); *Z. exp. Med.* **122**, 578 (1954).
- [223] SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ und H. GÖTZ: *Med. Welt* **43**, 2216 (1961).
- [224] SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ, H. GÖTZ und M. ROHRWASSER: *Z. Krebsforsch.* **70**, 178 (1967).
- [225] SCHMIDT, H.: Fortschritte d. Serologie, 2. Aufl. Steinkopff, Darmstadt **1955**; Experimentelle Serologie. In: HANSEN, K.: Allergie 3. Aufl., Thieme, Stuttgart **1956**.
- [226] SCHOEN, R. und H. SÜDHOF: Biochemische Befunde um die Differentialdiagnose innerer Krankheiten. Thieme, Stuttgart **1960**.
- [227] SCHREK, R. und F. W. PRESTON: *Cancer Res.* **17**, 102 (1957).
- [228] SCHWENKE, K. D.: *Z. Krebsforsch.* **68**, 112 (1966).
- [229] SCHWENKE, K. D., R. PLASS und M. KUJAWÁ: *Z. Krebsforsch.* **68**, 234 (1966).
- [230] SELIGMANN, M., P. GRABAR und J. BERNARD: *Sang.* **26**, 52 (1955).
- [231] SHETLAR, M. R., C. P. ERWIN und M. R. EVERETT: *Cancer Res.* **10**, 445 (1950).
- [232] SHULMAN, S., N. R. ROSE und E. WITEBSKY: *J. Immunol.* **75**, 291 (1955).
- [233] SNELL, G. D.: *J. Nat. Cancer Inst.* **13**, 719 (1952); *Cancer Res.* **12**, 543 (1952); *Cancer Res.* **17**, 2 (1957); *J. Nat. Cancer Inst.* **20**, 787 (1958); Transplantable tumors. In: HOMBURGER, F. und W. H. FISHMAN: The Physiopathology of Cancer, S. 293 Hoeber-Harper, New York **1958**.
- [234] SNELL, G. D., A. M. CLOUDMAN und E. WOODWORTH: *Cancer Res.* **8**, 429 (1946).
- [235] SNELL, G. D., A. M. CLOUDMAN, E. FAILOR und P. DOUGLASS: *J. Nat. Cancer Inst.* **6**, 303 (1946).
- [236] SOROF, S. und P. P. COHEN: *J. Biol. Chem.* **190**, 303 (1951); *Cancer Res.* **11**, 376 (1951).
- [237] SOROF, S., M. M. McCUE und P. L. FETTERMAN: *Cancer Res.* **23**, 864 (1963).
- [238] SOUTHAM, C. M.: *Cancer Res.* **20**, 271 (1960).
- [239] SOUTHAM, C. M. und A. E. MOORE: *Ann. N.Y. Acad. Scie.* **73**, 635 (1957).
- [240] SOUTHAM, C. M., A. E. MOORE und C. P. RHODAS: *Science* **125**, 158 (1957).
- [241] SPENCER, R. R.: *J. Nat. Cancer Inst.* **2**, 317 (1942).
- [242] STEWART, F. W.: *Texas Rep. Biol. a. Med.* **10**, 239 (1952).
- [243] STICKER, A.: *Z. Krebsforsch.* **7**, 55 (1909).
- [244] SUGIURA, K. und R. BENEDICT: *Zbl. Bakteriol. Ref.* **87** (1926); *J. Cancer Res.* **10**, 194 (1926).
- [245] SUMMER, W. C., und A. G. FORAKER: *Cancer* **13**, 79 (1960).
- [246] TEE, D. E. H., J. WATKINS und M. WANG: *Lancet (London)* **204**, 391 (1964); *Immunology* **9**, 85 (1965).
- [247] TOBIŠKA, J., Z. BRADA, A. KONČENT und Z. PECHAN: *Neoplasma (Bratisl.)* **11**, 3 (1964); *Neoplasma (Bratisl.)* **11**, 13 (1964).
- [248] TOOLAN, H. W.: *Cancer Res.* **14**, 660 (1954).
- [249] UHLENHUTH, P.: Festschrift f. R. KOCH, S. 49–74, G. Fischer, Jena **1903**.
- [250] UHLENHUTH, P., HAENDEL und STEFFENHAGEN: *Z. Immunit. forsch.* **6**, 665 (1910).
- [251] URIEL, J.: *Bull. Soc. Chim. Biol. Suppl. I*, **39**, 105 (1957).
- [252] URIEL, J. und P. GRABAR: *An. Inst. Pasteur* **90**, 429 (1956).
- [253] URIEL, J. und J. J. SCHEIDEGGER: *Bull. Soc. Chim. Biol.* **37**, 165 (1955).
- [254] URIEL, J., H. GÖTZ und P. GRABAR: *Schweiz. med. Wschr.* **1957**, 431.
- [255] URIEL, J., P. GRABAR und Ch. WUNDERLY: *Clin. Chim. Acta* **2**, 35 (1957).
- [256] VAN DER HELM, H. J.: *Clin. Chim. Acta* **7**, 124 (1962).

- [257] WACHSMUTH, E. D. und G. PFLEIDERER: *Biochem. Z.* **336**, 545 (1963); *Angew. Chem.* **75**, 145 (1963).
- [258] WARBURG, O.: *The Metabolism of Tumors*. Constable, London **1930**; *Wasserstoff-übertragende Fermente*, Sangr. Berlin **1948**, S. 54; *Science* **123**, 309 (1956).
- [259] WARBURG, O. und F. KUBOWITZ: *Biochem. Z.* **189**, 242 (1927).
- [260] WEICHSELBAUM, T. E.: *Amer. J. Clin. Path.* **10**, 40 (1946).
- [261] WEILER, E.: *Z. Naturforsch.* **76**, 324 (1952); *Brit. J. Cancer* **10**, 553 (1956); *Brit. J. Cancer* **10**, 560 (1956).
- [262] WHITCUTT, J. M. und L. A. ELSON: *Biochem. J.* **83**, 11 (1962).
- [263] WIELAND, Th., G. PFLEIDERER, I. HAUPT und W. WÖRNER: *Biochem. Z.* **332**, 1 (1959).
- [264] WILLIAMS, C. A. und P. GRABAR: *J. Immunol.* **74**, 158 (1955).
- [265] WITEBSKY, E.: *Z. Immunit. forsch.* **62**, 59 (1929); *Naturwiss.* **40**, 771 (1929); *Klin. Wschr.* **1930**, 58.
- [266] WITEBSKY, E. und E. MORELLI: *Z. Immunit. forsch.* **78**, 179 (1933).
- [267] WITEBSKY, E. und K. OKABE: *Z. Immunit. forsch.* **52**, 359 (1927).
- [268] WITEBSKY, E. und P. PÖBLAU: *Z. Immunit. forsch.* **76**, 82 (1932).
- [269] WITEBSKY, E. und N. R. ROSE: *J. Immunol.* **76**, 408 (1956).
- [270] WITEBSKY, E. und J. STEINFELD: *Z. Immunit. forsch.* **58**, 271 (1928).
- [271] WITEBSKY, E., N. R. ROSE und S. SHULMAN: *Cancer Res.* **16**, 831 (1956).
- [272] WÖHLER, F. und S. ARDEN: *Klin. Wschr.* **41**, 509 (1963).
- [273] WOGLOM, W. H.: *Cancer Res.* **4**, 129 (1929).
- [274] WOODRUFF, M. F. A. und M. O. SYMES: *Brit. J. Cancer* **1962**, 707.
- [275] WUHRMANN, F. und Ch. WUNDERLY: *Die Bluteiweißkörper des Menschen*. Schwabe, Basel **1952**.
- [276] YAGI, Y. und D. PRESSMAN: *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **106**, 164 (1961).
- [277] YOKOHARDI, R.: *Ryumachi (Japan)* **2**, 207 (1961).
- [278] ZILBER, L. A.: *J. Nat. Cancer Inst.* **18**, 341 (1957); *Adv. Cancer Res.* **5**, 291 (1958); *Neoplasma (Bratisl.)* **6**, 337 (1959).
- [279] ZILBER, L. A., I. N. KRIUKOVÁ, N. V. NARTISSOV und T. I. BIRIULINÁ: *Problems of Oncology* **4**, 285 (1958).
- [280] ZIRONI, A.: *WEICHARDT's Erg. Hyg.* **17**, 147 (1935); *Klin. Wschr.* **17**, 1224 (1939).
- [281] ZUPPINGER, K., R. RICHTERICH und E. ROSSI: *Schweiz. med. Wschr.* **92**, 169 (1962); *Schweiz. med. Wschr.* **92**, 198 (1962).

Literatur II

- [1] ABELEV, G. I.: Acta Un. Int. Cancer **19**, 70 (1963).
- [2] ALEXANDER, P.: Nature (London) **235**, 137 (1972).
- [3] ALEXANDER, P. and G. H. FAIRLEY: Brit. med. Bull. **23**, 86 (1967).
- [4] ANDERSEN, V., O. BJERRUM, G. BEN-DIXEN, T. SCHIØDT and I. DESSING: Int. J. Cancer **5**, 357 (1970).
- [5] ARDENNE von, M., W. KRÜGER, O. PROKOP und St. SCHNITZLER: Dtsch. Ges. Wes. **24**, 588 (1969).
- [6] BAENKLER, H.-W., H. GÖTZ and F. SCHEIFFARTH: Oncology **23**, 217 (1969).
- [7] BARANDUN, S.: Praxis (Bern) **56**, 1653 (1967).
- [8] BERG, J. W.: Cancer **12**, 714 (1959).
- [9] BERGER, F.: Amer. Lectures Ser. Publ. Nr. 424, Charles C. Thomas Publ., Springfield, Ill. 1961.
- [10] BERGSTRAND, C. and B. CZAR: Scand J. Clin. Lab. Invest. **9**, 227 (1957).
- [11] BITTNER, J. J.: J. Genetics **31**, 471 (1935); Science **84**, 162 (1936).
- [12] BOER de, W. R. G. M., A. FORSYTH and R. C. NAIRN: Brit. Med. J. **3**, 93 (1968).
- [13] BONATTI, A., W. RAPP et P. BURTIN: Anticorps antitumeurs gastriques humaines chez le lapin et chez l'homme. Protides Biol. Fluids, 11th Coll., Bruges 1963, Ed. Peeters, Elsevier, Amsterdam 1964, S. 219.
- [14] BOYD, W.: The spontaneous regression of cancer. C. C. THOMAS, Springfield, Ill. 1966.
- [15] BOYLE, W.: Immunogenetic aspects of carcinogenesis. In: BUSCH, H.: Methods in cancer research, Vol. 2, Acad. press, New York 1967, S. 83.
- [16] BOYSE, E. A., L. J. OLD and H. OETTGEN: Tumor immunology. In: Textbook of immunopathology (Miescher, P. A. and J. H. Mueller-Eberhard), Grune Stratton, New York-London 1968, Vol. II, S. 768-788.
- [17] BRUNNER, K. T., J. MAUEL, J. C. CEROTTINI and B. CHAPUIS: Immunology **14**, 181 (1968).
- [18] BUBENÍK, J., P. PERLMANN, K. HELMSTEIN and G. MOBERGER: Int. J. Cancer **5**, 310 (1971).
- [19] BUFPE, D., C. RIMBAUT, J. LEMERLE, O. SCHWEISGUTH and P. BURTIN: Int. J. Cancer **5**, 85 (1970).
- [20] BURCHENAL, J. H. and M. L. MURPHY: Cancer Res. **25**, 1491 (1965).
- [21] BURKITT, D. P.: Brit. Med. J. **4**, 424 (1970).
- [22] BURKITT, D. P. and D. H. WRIGHT: Burkitt lymphoma. E. S. Livingstone, Edinburgh-London 1970.
- [23] BURNET, F. M.: Univ. Press, Cambridge 1959; Science **133**, 307 (1961); Brit. med. Bull. **20**, 154 (1964); Brit. med. J. **II**, 338 (1965).
- [24] BURTIN, P., S. von KLEIST, W. RAPP, F. LOISILLIER, A. BONATTI et P. GRABAR: Presse méd. (Paris) **73**, 2599 (1965).
- [25] COLLAZ, E., S. von KLEIST and P. BURTIN: Int. J. Cancer **8**, 298 (1971).
- [26] DEFENDI, V. and R. A. ROOSA: The role of the thymus in carcinogenesis. In: The thymus, Wistar Institute monograph Nr. 2 (Wistar) 1964, S. 121.
- [27] DUPLAN, I. F.: Pathol. Biol. (Paris) **11**, 917 (1963).
- [28] EBBESEN, P.: Nature (London) **210**, 1125 (1966).

- [29] EVERSON, T. C. and W. H. COLE: Spontaneous regression of cancer. W. D. Saunders, Philadelphia—London 1966.
- [30] FAHEY, J. L.: Proc. Nat. Cancer Conf. **5**, 417 (1964).
- [31] FASS, L., R. B. HERBERMAN, J. L. ZIEGLER and J. W. M. KIRYABWIRE: Lancet (London) **I**, 116 (1970).
- [32] FINK, M. A. and F. J. RAUSCHER: J. Nat. Cancer Inst. **32**, 1075 (1964).
- [33] FISHER, J. C. and W. G. HAMMOND: Cancer **21**, 160 (1968).
- [34] FISHMAN, W. H., L. L. STOLBACH and M. J. KRANT: Nature (London) **219**, 697 (1968).
- [35] FOLEY, E. J.: Cancer Res. **13**, 835 (1953).
- [36] GALLMEIER, W. M. und H. F. OETTGEN: Dtsch. med. Wschr. **93**, 1114 (1968).
- [37] GERICKE, D.: Med. Klin. **63**, 1143 (1968).
- [38] GÖTZ, H.: Wesen und klinische Bedeutung der Tumormmunologie. Med. Klin. (im Druck); Klinisch faßbare Kriterien einer immunologischen Tumor-Wirt-Beziehung. Klin. Wschr. (im Druck).
- [39] GÖTZ, H. und H. FLÜGEL: Med. exp. **19**, 149 (1969).
- [40] GÖTZ, H. und D. GOLLE: Münch. med. Wschr. **48**, 2203 (1970).
- [41] GÖTZ, H. und F. KRIEGER: Präzipitierende Antikörper im Serum von Patienten mit malignen und entzündlichen Prozessen des Verdauungstraktes (zum Druck vorbereitet).
- [42] GOLD, P. and S. O. FREEDMAN: J. Exp. Med. **122**, 467 (1965).
- [43] GOOD, R. A., J. FINSTAD, P. M. MIESCHER and R. T. SMITH: Immunologic deficiency disorders in man. National Foundation Press, New York 1968.
- [44] GORER, P. A.: Adv. Cancer Res. **4**, 149 (1956).
- [45] GRACE, J. T., Jr.: Ann. N.Y. Acad. Sci. **114**, 736 (1964).
- [46] GROSS, L. A.: Cancer Res. **3**, 326 (1943); Cancer Res. **3**, 770 (1943); J. Immunol. **50**, 91 (1945).
- [47] GSELL, H. O.: Schweiz. med. Wschr. **101**, 841 (1971).
- [48] HABEL, K.: Proc. Soc. exp. Biol. **106**, 722 (1961).
- [49] HAKKINEN, I. and S. VIKARI: Ann. Surgery **169**, 277 (1969).
- [50] HAMMER, D.: Zbl. Vet. Med. **B 15**, 51 (1968).
- [51] HAŠEK, M.: Immunology of cancer. In: Research report 1959–1966 of the Institute of Experimental Biology and Genetics. Fol. Biol. (Praha) **13**, 208 (1967).
- [52] HATTLER, B., Jr. and B. AMOS: The immunology of cancer: Tumor antigens and the responsiveness of the host. Monogr. Surg. Sci. **3**, 1 (1966).
- [53] HELLSTRÖM, K. E. and I. HELLSTRÖM: Advanc. Cancer Res. **12**, 167 (1969).
- [54] HELLSTRÖM, I., K. E. HELLSTRÖM, G. PIERCE and J. P. S. YANG: Nature (London) **220**, 1352 (1968).
- [55] HELLSTRÖM, I., H. O. SJÖGREN, G. WARNER and K. E. HELLSTRÖM: Int. J. Cancer **7**, 226 (1971).
- [56] HELLSTRÖM, I., K. E. HELLSTRÖM, C. A. EVANS, G. H. HEPPNER, G. E. PIERCE and J. P. S. YANG: Proc. nat. Acad. Sci. **62**, 362 (1969).
- [57] HERMANN, G.: Ärztebl. Rhein. **5**, 131 (1969).
- [58] HOLLINGSHEAD, A., D. GLEW, B. BUNNAG, Ph. GOLD and R. HERBERMAN: Lancet (London) **I**, 1191 (1970).
- [59] HUGHES, L. E., W. D. MACKAY and B. LYTTON: Med. J. Aust. **53**, II, 741 (1966).
- [60] HUME, D. M.: Adv. Surg. **2**, 419 (1966).
- [61] HUMPHREY, H. und R. G. WHITE: Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Thieme, Stuttgart 1971.
- [62] HUMPHREY, L. J., P. M. LINCOLN and W. O. GRIFFEN: Ann. Surg. **168**, 374 (1968).
- [63] HUTCHESON, J. B.: Arch. Path. **54**, 314 (1952).
- [64] JANDL, J. H. and J. H. KATZ: J. Clin. Invest. **42**, 314 (1963).

- [65] JAKOUBKOVÁ, J., V. BEK, N. HAVRÁNKOVÝ, L. PALEČEK and P. KOLDOVSKÝ: Čs. radiol. **19**, 393 (1965).
- [66] JAKOUBKOVÁ, J., P. KOLDOVSKÝ, V. BEK, A. MÁJSKÝ, V. SCHNEID and M. VOPATOVÁ: Neoplasma (Bratisl.) **12**, 531 (1965).
- [67] KLEIN, E.: Europ. J. Cancer **6**, 15 (1970).
- [68] KLEIN, G.: Cancer Res. **19**, 343 (1959); Israel. J. M. Sci. **2**, 135 (1966); J. Nat. Cancer Inst. 1967.
- [69] KLEIN, E. and G. KLEIN: J. Nat. Cancer Inst. **32**, 547 (1964); Cancer Res. **25**, 851 (1965).
- [70] KLEIN, G. and E. KLEIN: Cold. Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **27**, 463 (1962); Science **145**, 1316 (1964).
- [71] KLEIST von, S. and P. BURTIN: Immunology **10**, 507 (1966).
- [72] KOLDOVSKÝ, P.: Acta Un. int. Cancr. (Louvain) **19**, 99 (1963); Tumor specific transplantation antigen. In: Recent results in cancer research. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1969.
- [73] KRUPPEY, J., P. GOLD and S. O. FREEDMAN: J. Exp. Med. **128**, 387 (1968).
- [74] Leading Article: Immunosuppression and cancer. Lancet (London) **I**, March 8th, 505 (1969).
- [75] LETTRÉ, H.: Die Wirt-Tumor-Beziehung und ihre Bedeutung für die Chemotherapie. In: Lettré, H. und S. Witte: Experimentelle und klinische Erfahrungen mit Podophyllinderivaten in der Chemotherapie. 2. Rothenburger Gespräch, 15.-16. Juni 1966, F. K. Schattauer, Stuttgart 1967.
- [76] LUMSDEN, T.: Amer. J. Cancer **15**, 563 (1931).
- [77] MATHÉ, G., J. DAUSSET, E. HERVET, J. L. AMIEL, J. COLOMBANI and G. BRULE: J. nat. Cancer Inst. **33**, 193 (1964).
- [78] MATHÉ, G., J. AMIEL, L. SCHWARZENBERG, M. SCHNEIDER, A. CATTAN, J. R. SCHLUMBERGER, M. HAYAT and F. DE VASSAL: Lancet (London) **I**, 697 (1969).
- [79] MATHIAS, D. B.: Brit. J. Urol. **43**, 65 (1971).
- [80] MIKULSKA, Z. B., C. SMITH and P. ALEXANDER: J. nat. Cancer Inst. **36**, 29 (1966).
- [81] MILGROM, F.: Cancer Res. **21**, 862 (1961).
- [82] MOORE, G. E.: Texas Med. **64**, 54 (1968).
- [83] MORGAN, E. H.: Brit. J. Haematol. **10**, 442 (1964).
- [84] NAGEL, G. A.: Schweiz. med. Wschr. **100**, 995 (1970); Schweiz. med. Wschr. **101**, 470 (1971).
- [85] NAGEL, G. A. und Ch. GEIGER: Schweiz. med. Wschr. **101**, 1605 (1971).
- [86] NAIRN, R. C., J. E. FOTHERGILL, M. G. McENTEGART and I. B. PORTEOUS: Brit. med. J. **1**, 1788 (1962).
- [87] NAIRN, R., H. G. RICHMOND, M. G. McENTEGART and J. E. FOTHERGILL: Brit. med. J. **2**, 1335 (1960).
- [88] NGU, V. A.: Brit. med. J. **1**, 345 (1967).
- [89] OETTGEN, H. F.: Tumor-Immunologie, Dtsch. Krebskongreß, Hannover, 30.9. bis 2.10.1971
- [90] OETTGEN, H. F. und W. M. GALLMEIER: Dtsch. med. Wschr. **93**, 1072 (1968); Dtsch. med. Wschr. **93**, 1157 (1968).
- [91] OETTGEN, H. F., E. A. BOYSE and L. J. OLD: Krebsforsch. u. Krebsbekämpfung. **6**, 49 (1967).
- [92] OLD, L. G. and E. A. BOYSE: Ann. Rev. Med. **15**, 167 (1964).
- [93] OPPELT, W. W.: Internat. Anesthes. Clin. **6**, 219 (1968).
- [94] PETERSON, R. D. A., W. D. KELLY and R. A. GOOD: Lancet (London) **I**, 1189 (1964).
- [95] PREHN, R. T.: Ann. N.Y. Acad. Sci. **101**, 107 (1962); In: Cross reacting antigens and neoantigens with implications for autoimmunity and cancer immunity. Trentin, Baltimore: Williams and Wilkins 1967.

- [96] PREHN, R. T. and J. M. MAIN: *J. nat. Cancer Inst.* **18**, 769 (1957).
- [97] PROKOP, O., A. GRAFFI und St. SCHNITZLER: *Acta biol. med. germ.* **20**, 9 (1968).
- [98] RENKONEN, K. O.: *Ann. Med. Exp. Fenn.* **43**, 155 (1965).
- [99] ROBINSON, E., J. SHULMAN, N. BEN-HUR, H. ZUCKERMAN and Z. NEUMAN: *Lancet* (London) **300** (1963).
- [100] RUBIN, A. D., L. I. JOHNSON and S. M. BROWN: Lymphocyte proliferation and lymphoproliferative disorders. In: *Progr. exp. Tumor Res.* **13**, 135, S. Karger, Basel-München-New York 1970.
- [101] SAVEL, H.: *Cancer* **24**, 56 (1969).
- [102] SCANLON, E. F., R. A. HAWKINS, W. W. FOX and W. S. SMITH: *Cancer* **18**, 782 (1965).
- [103] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und E. LEHR: *Med. exp.* **18**, 86 (1968).
- [104] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und U. MUNDHENKE: *Med. exp.* **18**, 95 (1968).
- [105] SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und H. W. HERBST: *Med. exp.* **19**, 86 (1969).
- [106] SCHLESINGER, M.: How cells acquire antigens. In: *Progr. exp. Tumor Res.*, **13**, 28, S. Karger, Basel-München-New York 1970.
- [107] SCHMIDT, C. G.: *Dtsch. med. Wschr.* **94**, 508 (1969).
- [108] SCHNEEWEISS, U.: *Arch. Geschwulstforsch.* **32**, 108 (1968).
- [109] SCHWARTZ, R. S.: Immunological aspects in neoplasia. In: *Homburger, F.: Progress in exp. Tumor Res.* S. Karger, Basel-München-New York 1970.
- [110] SJÖGREN, H. O.: In: *Tumor specific antigens.* Munksgaard, Kopenhagen 1967.
- [111] SJÖGREN, H. O. and I. HELLSTRÖM: In: *Tumor specific antigens.* Munksgaard, Kopenhagen 1967.
- [112] SKURKOVICH, S. V., N. S. KISLJAK, L. A. MACHONOVÁ and S. A. BEGUNENKO: *Nature* (London) **223**, 509 (1969).
- [113] SMITH, R.: *New Engl. J. Med.* **278**, 1207 (1968).
- [114] SMITHERS, D. W.: On the nature of neoplasia. Livingstone, Edinburgh 1964.
- [115] SOLOWEY, A. C. and F. T. RAPAPORT: *Surg. Gynec. Obstet.* **121**, 756 (1965).
- [116] SOUTHAM, C. M.: *Cancer Res.* **20**, 271 (1960); *Europ. J. Cancer* **1**, 173 (1965); *Cancer Res.* **26**, 2496 (1966).
- [117] STEFFEN, C.: *Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie sowie ihre klinische Anwendung.* Thieme, Stuttgart 1968.
- [118] STEWART, T. H. M.: *Cancer* **23**, 1380 (1969).
- [119] STOLBACH, L. L., M. J. KRANT and W. H. FISCHMAN: *New Engl. J. Med.* **281**, 757 (1969).
- [120] STÜCK, B.: *Z. Krebsforsch.* **69**, 236 (1967).
- [121] STÜCK, B., E. A. BOYSE, L. J. OLD and E. A. CARSWELL: *Nature* (London) **203**, 1033 (1964).
- [122] TEICHMANN, B. und G. WITTIG: *Dtsch. Ges. Wes.* **18**, 707 (1963).
- [123] THOMSON, D. M. P., J. KRUPPEY, S. O. FREEDMAN and P. GOLD: *Proc. nat. Acad. Sci.* **64**, 161 (1969).
- [124] UHLENBRUCK, G.: *Immunbiologie. Eine Einführung.* W. Goldmann, München 1971.
- [125] UHLENBRUCK, G. und W. GIELEN: *Med. Welt* **20**, 322 (1969).
- [126] UHLENBRUCK, G., H. OTTEN und U. REIFENBERG: *Z. Krebsforsch.* **70**, 350 (1968).
- [127] URIEL, J., B. NEUCHAU de, M. STANISLAWSKI-BIERENCWAJG, R. MASSÉYEFF, L. LEBLANC, C. QUENUM, F. LOISILLIER et P. GRABAR: *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **265**, 75 (1967).
- [128] WITEBSKY, E.: *Canad. Med. Ass. J.* **97**, 1371 (1967).
- [129] WOODRUFF, M. F. A.: *Lancet* (London) **2**, 265 (1964).
- [130] ZILBER, L. A.: *Neoplasma* (Bratisl.) **6**, 337 (1959).

Stichwortverzeichnis

- Absorptionstechniken 32, 37
Acetylcholinesterasen s. Esterasen
Afferente Phase 77
Aliesterasen s. Esterasen
Allergische Reaktion
— Stufenreaktion 2, 3
— Spätreaktion 76, 82
— Sofortreaktion 82
— vom Intermediärtyp 82
 α_1 -Foetoprotein (AFP) 88, 89, 107
 α_2 H-Ferroprotein 88
Alteration
Amylase(n)
 Nachweis von — 13
 in menschlichen Organhomogenaten 23
 in menschlichen Tumorhomogenaten 23
 im Serum Gesunder 23
 in normaler Skelettmuskulatur der Ratte 27
 der Homogenate rattentransplantabler Tumoren 25, 27
 in Rattenserum 51, 5
Antigene
 Alloantigene 5
 Autoantigene 5
 Xenoantigene 5
 Isoantigene 5, 76
 äthanollösliches Antigen 6
 Sphigmo-Lipid 6
 Malignolipin 6
 zytoplasmatische 6
 Nukleoantigen 7, 78
 Polysaccharid— 7
 Milchfaktor 7
 β/γ -Globulin 7
 CO₂-fällbares Proteinantigen 7
 organspezifische 7, 76
 spezies-spezifische 7, 76
 tumorspezifische — 76
 Transplantationsantigene (TSTA) 76
 tumorspezifische, zyttoplasmatische (TSCA) — 78
 Nekrose— 84
 Foetoproteine (F-Proteine) 88
 carcinoembryonale Antigene (CEA) 88
 Nachweis von — 94
 blutgruppenspezifische — 7
 Mitochondrienfraktion 6
 Albumin 7
Antigenität 4
Antigenmodulation 96
Antigenreversion 83
Antikörper
 tumorspezifische — 4, 2
 zytotoxische — 2, 82
 zirkulierende — 2, 72, 77, 82
 zellvermittelte — 72, 77, 82
 passive Übertragung von — 2, 40, 41
 antizytotoxische — 3
 komplementbindende — 82
 agglutinierende — 82
 blockierende — 82
 enhancing — 82
 präzipitierende — 82
 antinukleäre — 82
Antikörpermangelsyndrom (AKMS) 97
Antiseren — Gewinnung von — 28
 gegen menschliche Gewebshomogenate 28, 34
 gegen menschliche Tumorhomogenate 29, 34
 gegen die Homogenate normaler Skelettmuskulatur sowie rattentransplantabler Tumoren 29, 40
 gegen DNS 41
Antigen-Antikörper-Reaktion
 tumorspezifische — 2, 77
Austauschtransplantation rattentransplantabler Tumoren 42, 58

Biochemische Nachweismethoden
 nach Agarelektrophorese 12, 44, 49
Blutgruppenfaktoren 6, 7
Bronchialcarcinom 90
BURKITT-Lymphom 83, 86, 89

- Carcinoembryonale Antigene (CEA) 88
 Cholinesterasen
 s. Esterasen
 Chorionepitheliom 89
 Coeruloplasmin
 Darstellung mit Hilfe der Oxidaserreaktion 12
 in menschlichen Organhomogenaten 18
 in menschlichen Tumorphomogenaten 18
 in Rattenserum 49, 50ff.
 Colon-Carcinom 10, 37, 105, 108
 Colony inhibition-Test (CI-Test) 91
 C-reaktives Protein 106

 Deletionstheorie 82
 Diversionstheorie 83

 Efferente Phase 77
 Elektrophorese
 einfache — im Agargel 11, 44, 48
 — — auf Celluloseacetatfolien 101
 — — — Papier 32, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56
 Immun — 31, 45, 51, 52, 54, 106
 Überwanderung — 94
 Enhancement 96
 Esterasen
 Nachweis mit β -Naphthylacetat 12
 Nachweis mit Indoxylacetat 12
 in menschlichen Organhomogenaten 18, 19, 64
 in menschlichen Tumorphomogenaten 20, 64
 im Serum Gesunder 18, 20
 normaler Skelettmuskulatur der Ratte 26
 im normalen Rattenserum 26
 der Homogenate ratten transplantabler Tumoren 25, 27
 in Rattenserum 49, 50ff.

 Foetales Sulphoglycoprotein 89

 γ -Foetoprotein 88
 Gewebekomogenate
 Aufbereitung von — 10
 menschlicher Normalgewebe 9, 10, 62
 menschlicher Tumoren 9, 10, 62
 von Rattenmuskulatur 9, 10, 24

 transplantabler Tumoren der Ratte 9, 10, 24, 68
 immunologischer Nachweis 28ff., 33ff., 38, 64ff., 71
 normaler Magenschleimhaut 10, 13, 16, 19, 21
 normaler Magenwand 10, 21
 normaler Colonschleimhaut 10, 13, 15, 19, 21
 normalen Leberparenchyms 10, 13, 19, 21, 35
 normalen Mammaparenchyms 10, 36
 normalen Nierenparenchyms 10, 13, 19, 21
 normalen Ovarialgewebes 10, 13, 14, 19, 21
 normalen Prostatagewebes 10, 13, 14, 21
 normalen Pankreasgewebes 10, 14, 19, 21
 normalen Lymphknotengewebes 10, 13, 21
 Glykoproteide
 Darstellung durch Färbung 12, 17
 in menschlichen Organhomogenaten 17, 62
 in menschlichen Tumorphomogenaten 17, 62
 normaler Skelettmuskulatur der Ratte 26
 der Homogenate ratten transplantabler Tumoren 26
 in Rattenserum 49, 50ff.

 Hämodorption 94
 Hämagglutination
 passive — nach BOYDEN 30, 43, 45, 46, 51, 53, 55, 59, 93
 Harnblasencarcinom 91
 Hauttestungen 92
 Hepatitis associated antigen (HAA) 107
 Hodgkin-Sarkom 10
 Hypernephrom 10, 15, 18, 37, 90

 Immundiffusionstechnik
 zweidimensionale Doppel — nach OUCHTERLONY 30, 43, 46, 51, 53, 55, 93
 Immunelektrophorese
 s. Elektrophorese

- Immunfluoreszenz-
 Techniken 44
 Befunde bei Ratten 52, 54, 56, 69, 93
 Immunkomplexbildung 78
 Immunologisch kompetentes System
 (ICS) 76
 Immuninsuffizienz 97, 99
 Immunselektion 96
 Immunsuppressive Therapie 89
 Immuntoleranz 79, 81, 95
 Verlust der — 81
 Intestinale Tumoren 88
- Komplementbindungsreaktion (KBR) 93
 Kupfer
 proteingebundenes —;
 Darstellung mit Alizarin-S-Blau 12
 — — p-Phenylendiamin 12
 in menschlichen Organhomogenaten
 17, 63
 in menschlichen Tumorphomogenaten
 18, 63
- Lactatdehydrogenase
 Isoenzyme 21
 Nachweis mit Tetrazoliumblau 12
 in menschlichen Geweishomogenaten
 20, 21, 22, 63
 in menschlichen Tumorphomogenaten
 21, 22, 63
 im Serum Gesunder 21
 normaler Skelettmuskulatur der
 Ratte 27
 der Homogenate ratten transplantabler
 Tumoren 27
 in Rattenserum 49, 50, 51, 54
- Leber-Carcinom
 primäres 10, 15, 18, 35, 88
- Leukämien 87
- Lipoproteide
 Färbung mit Sudanswarz B 12
 in menschlichen Normalhomogenaten
 17, 62
 in menschlichen Tumorphomogenaten
 17, 62
 normaler Skelettmuskulatur der
 Ratte 26
 der Homogenate ratten transplantabler
 Tumoren 25, 26
- Lymphomatöse Systemerkrankungen
 87
- Lymphozyten
 tumorspezifisch sensibilisierte 77,
 78, 91
 Nachweis von — 91, 92, 104
 Übertragung von — 101, 104
 Lymphozyten-Transformationstest
 (LTT) 92, 107
- Magen-Carcinom 10, 16, 105, 108
 Magen-Scirrhus 10, 18
 Makrophagen-Inhibitions (MPI)-Test 92
 Mamma-Carcinom 10, 36, 37, 89, 105
 Melanoblastom 105
 Melanom, malignes — 87, 105
 Milzexstirpation und Tumorentstehung 98
 Mixed lymphocyte tumor cell culture-Test
 (MLTC-Test) 91, 102, 103, 107
 Molekulare Antikörper
 tumorspezifische — 77, 82
 Nachweis von — 92
 s. auch Antikörper
- Neoantigene 76, 80
- Oesophagus-Carcinom 108
 Ovarial-Carcinom 10
 Ovarialcystom 88
 — und α_1 -Foetoprotein
- Oxidase(n)
 Nachweis von — 12
 in menschlichen Organhomogenaten
 18
 in menschlichen Tumoren 18
 in Rattenserum 49, 50, 51
- Pankreas-Carcinom 10, 105, 108
 Plaque-Technik 91
- Peroxidase(n)
 Nachweis von — 12
 in menschlichen Organhomogenaten
 21
 in menschlichen Tumorphomogenaten
 21
 im Serum Gesunder 21
 normaler Skelettmuskulatur der
 Ratte 27
 der Homogenate ratten transplantabler
 Tumoren 25, 27
- Phosphatase
 alkalische —; Nachweis 13
 in menschlichen Normalgeweben 24

- in menschlichen Tumorhomogenaten 24
- im Serum Gesunder 24
- Plasmazellen 77
- Prostata-Carcinom 10, 18, 90
- Proteinfärbung 12
 - menschlicher Normalgewebe 13, 62
 - menschlicher Tumorgewebe 14, 62
 - normaler Skelettmuskulatur der Ratte 24
 - der Homogenate rattentransplantabler Tumoren 25, 26
 - in Rattenserum 49, 50
- Pseudoesterasen
 - s. Esterasen
- Rectum-Carcinom 10, 105, 108
- Sensibilisierung
 - mit Tumorhomogenat (im Tierversuch) 40
- Serumproteine
 - nicht behandelte Ratten
 - bei tumortragenden Ratten 46
 - sensibilisierter sowie tumortragender Ratten 45, 46, 52ff., 69, 103
 - bei Carcinompatienten 106
- Sponge-Phänomen 97
- Sulfatase(n)
 - Nachweis von 12
 - in menschlichen Organhomogenaten 23
 - in menschlichen Tumorhomogenaten 23
 - im Serum Gesunder 23
- Teratoblastom 88
- und α_1 -Foetoprotein
- Thymektomie
 - und Tumorentstehung 98
- Toxine
 - tumorspezifische — 3
- Transformation 80
- Tumorantigene
 - Entstehung von — 80
 - primäre — 80
 - sekundäre — 83
 - Pseudo — 83
 - experimentell induzierte 84
 - (chemisch-, durch onkogene Viren induzierte)
 - menschlicher Neoplasmen 85
- Tumorexstirpation 43
- Tumorproteine
 - lösliche — aus Homogenaten 9
- Tumorstadium
 - Hemmung des — 2
- Tumorzell-Humantransferrin-Komplexe
 - Herstellung von — 102
 - experimentelle Befunde an tumortragenden Ratten 102
 - Wirkungsweise 109
- Übertragung von Anti-DNS-Seren
 - passive — auf Ratten 41
- Übertragung von Anti-Tumor-Seren
 - passive — auf Ratten 40
- Überwanderungselektrophorese
 - s. Elektrophorese
- Walker-Carcinom 10, 24, 25, 28
- Yoshida-Sarkom 10, 24, 25, 28
- Zentrale Phase 77
- Zytotoxizitätstest(e) 92, 94



Walter de Gruyter Berlin · New York

H. Götz

Immunologische Plasmaprotein-Diagnostik

Groß-Oktav. Etwa 180 S. 1972. Geb. Etwa DM 58,—
ISBN 3 11 003772 6

(Arbeitsmethoden der modernen Naturwissenschaften)

H. R. Maurer

Disc Electrophoresis

and Related Techniques of Polyacrylamide Gel
Electrophoresis

2nd revised and expanded edition. With 88 fig.,
16 tables and 948 literature refer. Large-Octavo.
XVI, 222 pp. (with 1 Fold-out chart) 1971.

Bound DM 68,— ISBN 3 11 003495 6

(Working Methods in Modern Science)

Fischer – Werner

Autoradiographie

Oktav. X, 214 S. Mit 93 Abb. und 14 Tab. 1971.
Geb. DM 42,— ISBN 3 11 006404 9

(Arbeitsmethoden der modernen Naturwissenschaften)

E. Buddecke

Grundriß der Biochemie

Für Studierende der Medizin, Zahnmedizin und
Naturwissenschaften

2. Aufl. Mit mehr als 400 Formeln, Tab. und Diagn.
Groß.-Oktav XXXII, 499 S. 1971. Pl. fl. DM 27,50
ISBN 3 11 006402 2

(de Gruyter Lehrbuch)

H. Mattenheimer

Mikromethoden für das klinisch-chemische und biochemische Laboratorium

2., völlig Neubearb. u. erw. Aufl. Oktav. Mit 35 Abb.
XVI, 223 S. 1966. Geb. DM 30,—
ISBN 3 11 000835 1



Walter de Gruyter Berlin · New York

Fritz – Tschesche
(Editors)

Proceedings of the International Research Conference on Proteinase Inhibitors

Munich, November 4-6, 1970

Large-octavo. XII, 304 pp. With 256 fig. and
95 tables. 1971. Paper DM 108,—
ISBN 3 11 003776 9

Curtius – Roth
(Editors)

Clinical Biochemistry

Principles and Methods

Large-octavo. Approx. 900 pp. With many graphs.
1973. Approx. DM 175,— ISBN 3 11 001622 2

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie

Herausgegeben von A. Butenandt, F. Lynen,
G. Weitzel

Unter Mitwirkung zahlreicher Fachgelehrter

Erscheinungsweise: jährlich 12 Hefte

Preis ab 1973: DM 480,— pro Jahrgang

Zuletzt erschien: Band 353/1972

Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry

Organ der Deutschen Gesellschaft für Klinische
Chemie

Verantwortliche Herausgeber: Joachim Brugsch,
Johannes Büttner, Ernst Schütte

Herausgegeben unter Mitwirkung weiterer
Fachwissenschaftler des In- und Auslandes

Quart. Ab 1972: 12 Hefte jährlich. Etwa 768 S.
DM 290,—; Einzelheft DM 28,— (ab 1973)

Zuletzt erschien: Jahrgang 10/1972

11

H. Götz
Antigenität von Tumor-
proteinen

DM

60.--

Autor · Titel

3 11 004052 2

geb.

ISBN

Einb.

Aufl.

Bd.

Reihe u.ä.

de Gruyter

12407

Verlag

Verkehrs-Nr.

BUCHLAUFKARTE

